

(19) **DANMARK**



(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **150504 B**



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(21) Patentansøgning nr.: 2584/77

(51) Int.Cl.4: **C 07 C 103/78**
A 01 N 49/04

(22) Indleveringsdag: 10 jun 1977

(41) Alm. tilgængelig: 12 dec 1977

(44) Fremlagt: 16 mar 1987

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 11 jun 1976 GB 24338/76

(71) Ansøger: *NYEGAARD & CO. A/S; Oslo, NO.

(72) Opfinder: Vegard *Nordal; NO, Hugo *Holtermann; NO.

(74) Fuldmægtig: Kontor for Industriel Eneret

(54) **Trijodisoftalsyrederivater til anvendelse som
røntgenkontrastmidler samt radiologiske præ-
parater indeholdende disse**

Den foreliggende opfindelse angår hidtil ukendte trijodisoftalsyrederivater til anvendelse som røntgenkontrastmidler samt radiologiske præparater der indeholder disse. De omhandlede stoffer er velegnede som røntgenkontrastmidler til intracerebral men navnlig til vaskulær anvendelse.

I GB patentskrift nr 1.321.591 og DK patentskrift nr 130.709 beskrives visse ikke-ioniske joderede forbindelser som røntgenkontrastmidler, hvilke forbindelser repræsenterer en vigtig fordel i forhold til tidligere kendte ioniske røntgenkontrastmidler med hensyn til bivirkninger på grund af høje jodkoncentrationer eller høj osmolalitet. Sådanne forbindelser er velegnede til et eller flere mulige områder af røntgenstrålevisualisering, men de er almindeligvis ikke velegnede til et stort område eller spektrum af sådanne anvendelser. Almindeligvis kan ikke-ioniske røntgenstrålekontrastmidler være anvendelige inden for to hovedområder, nemlig:

intravaskulær visualisering indbefattende urografi og angiografi, fx cerebral, coronar og perifer angiografi, og

myelografi, dvs. insprøjtning i cerebrospinalvæsken.

Hidtil har radiologer anvendt forskellige røntgenkontrastmidler specielt tilpasset forskellige anvendelsesområder, men der er tydelige fordele hvis det er muligt at anvende et enkelt røntgenkontrastmiddel til brede anvendelsesområder. Foruden økonomien i fabrikationsmålestok er det også mere tilfredsstillende for radiologer at være i stand til at anvende erfaringer med et kontrastmiddel vundet på et anvendelsesområde, fx urografi, indenfor et andet område, fx angiografi eller myelografi. Til sådanne formål betegnes i nærværende beskrivelse og krav et røntgenkontrastmiddel som kan anvendes indenfor alle former for intravaskulær visualisering og myelografi som et "generelt røntgenkontrastmiddel". Et virkelig nyttigt generelt røntgenkontrastmiddel bør imidlertid have en samling af gunstige essentielle parametre, nemlig lav toksitet lav osmolalitet, lav viskositet og høj stabilitet og evne til at kunne give opløsninger med høj koncentration men lav ionkoncentration. Det er meget vanskeligt at finde forbindelser som er tilstrækkeligt enkle at syntetisere, og som således er kommercielt anvendelig set fra et omkostningssynspunkt, og som har hver og en af de

ovenstående parametre på et tilfredsstillende niveau. Selv om minimumsstandarden for hver parameter ikke nødvendigvis er særlig høj i sig selv, er det meget ualmindeligt at finde en forbindelse som har hele samlingen af gunstige egenskaber på et passende højt niveau og som derfor er anvendelig som et generelt røntgenkontrastmiddel.

De ovenstående parametre behandles i det følgende mere detaljeret.

Toksisitet

Ved røntgenvisualisering af forholdsvis udstrakte områder i menneskelegemet, fx det vaskulære system eller de hulrum der indeholder cerebrospinalvæske skal der indsprøjtes store mængder røntgenkontrastmiddel for at give tilstrækkelig opacitet i det pågældende område. Derfor er toksisiteten af kontrastmidlet i høje koncentrationer og/eller i/dosisniveauer af stor betydning. Ved visualisering af det vaskulære system har der været foreslået et stort antal forbindelser som kontrastmidler og skønt mange af dem har været anvendt med held, giver deres toksitet, skønt meget ringe, ophav til nogle uønskede bivirkninger. Ved visualisering af de hulrum der indeholder cerebrospinalvæske er de højkonzentrerede forbindelser der anvendes ved vaskulær visualisering ofte alt for toksiske, skønt sådanne visualiseringer anvendes væsentligt mindre hyppigt end vaskulær visualisering.

På grundlag af det ovenfor angivne konkluderes at det foretrækkes at en forbindelse bør have en LD₅₀-værdi i.v. hos mus som er større eller lig med 17.000 mg I/kg for at tilfredsstille kravene for et særlig effektivt generelt røntgenkontrastmiddel. Foruden den intravenøse toksisitet er det nødvendigt af være opmærksom på nefrotoksiteten som har særlig betydning i forbindelse med røntgenkontrastmidler til vaskulær anvendelse. Som regel foretrækkes det at et røntgenkontrastmiddel ikke viser nogen signifikant forøgelse i sådanne klinisk-kemiske parametre som urinstofniveau og kreatinniveau ved dosisniveau under 8000 mg I/kg (bestemt hos kanin). Endvidere er den intracerebrale LD₅₀-værdi af et generelt røntgenkontrastmiddel fortrinsvis mindst 1500 mg I/kg hos mus.

For at opnå vandopløselighed har man i den sidste tid udvalgt forbindelser som bærer en sur gruppe, fx en karboxylsyre-

gruppe eller sulfonsyregruppe, da deres alkalimetalsalte og visse aminsalte hyppigt er yderst vandopløselige men skønt flere kommercielt anvendte kontrastmidler af denne type udviser forholdsvis lave intravenøse toksisitetsniveauer, har det vist sig at deres anvendelse i høje koncentrationer fører til uønskede bivirkninger navnlig når de indsprøjtes i cerebrospinalvæsken.

På det vaskulære område har N-metylglukaminsalte vist sig at fremkalde hjertefibrillering, mens natriumsalte i meget høje doser fremkalder lungeødem. Disse virkninger antages at være fremkaldt af selve kationerne.

I det subarachnoide rum kan opløsninger som indeholder N-metylglukammoniumioner fremkalde en depressiv virkning som giver svigtende åndedræt og nedsat blodtryk. Natriumioner har den modsatte virkning og fremkalder en forøgelse af blodtrykket og hjertefibrillering.

Osmolalitet

Ved siden af de toksiske virkninger på grund af kationerne er det en udbredt mening blandt specialister indenfor radiologien at disse bivirkninger skyldes, delvis, den osmotiske ubalance fremkaldt ved insprøjtning af meget store koncentrationer opløst materiale ind i legemsvæskerne.

Osmolaliteten af en opløsning af en kemisk forbindelse er normalt tilnærmelsesvis direkte proportional med summen af koncentrationen af de forskellige tilstedeværende molekulære eller ioniske dele. Et vandopløseligt salt, fx natriumsaltet eller en joderet syre, vil sædvanligvis være næsten fuldstændig ioniseret og osmolaliteten vil være proportional med koncentrationen af både anionen og kationen. Den samlede koncentration af ioniske dele vil således være tilnærmelsesvis 2 gange koncentrationen af saltet betragtet som en enkelt uioniseret forbindelse. I modsætning hertil vil for en ikke-ionisk forbindelse fx af den type der er beskrevet i det ovennævnte britiske patentskrift, dvs. en forbindelse som i det væsentlige er uioniseret i vandig opløsning, den forventede osmolalitet tilnærmelsesvis være simpelt proportional med molariteten af den tilstedeværende forbindelse, dvs. tilnærmelsesvis den halve værdi af en analog uionisk

forbindelse med to ioner. En osmolalitet på ca. 0,75 Os/kg ved 300 mg I/ml foretrækkes hvis en forbindelse skal opfylde kravene for en særlig foretrukket forbindelse til anvendelse som et generelt røntgenkontrastmiddel.

Høje koncentrationer

Vandige opløsninger der indeholder mere end 270 mg I/ml betragtes som foretrukne for en forbindelse til at opfylde kravene for en særlig foretrukket forbindelse til anvendelse som et generelt røntgenkontrastmiddel.

Viskositet

Røntgenkontrastmidler til intracerebral og intravaskulær anvendelse indgives sædvanligvis ved insprøjtning. Det er derfor vigtigt at det anvendte røntgenkontrastmiddel har en viskositet tilstrækkelig lav til at tillade indgift med acceptabel indsprøjtningshastigheder og for at sikre fysiologisk forenelighed.

En viskositet på 6,5 cP eller mindre ved 37°C (koncentration 300 mg I/ml) er nødvendig hvis forbindelsen skal opfylde kravene for en særlig foretrukket forbindelse til anvendelse som et røntgenkontrastmiddel.

Stabilitet

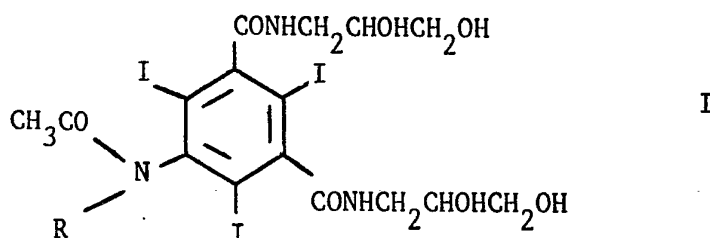
Det er også vigtigt at røntgenkontrastmidler er kemisk stabile. Mange forbindelser der tidligere har været foreslået til anvendelse som røntgenkontrastmidler har vist sig at undergå kemiske forandringer når de autoklaveres og sådanne er naturligvis uegnede. Det antages derfor som nødvendigt at en forbindelse bør være stabil ved autoklaving ved 120°C i 20 minutter hvis den skal opfylde kravene for en særlig foretrukket forbindelse til anvendelse som et generelt røntgenkontrastmiddel.

Fabrikation

Endelig må et kommercielt levedygtigt generelt røntgenkontrastmiddel være tilstrækkeligt simpelt (og derfor tilstrækkelig billigt) i fabrikationen så det kan sælges til en acceptabel pris. Røntgenkontrastmidler anvendes sædvanligvis i store mængder

sammenlignet med mange forbindelser der anvendes indenfor medicinen og det er meget vigtigt at holde deres pris så lav som mulig.

Den foreliggende opfindelse er baseret på den erkendelse at følgende forbindelser med den almene formel



hvor R er gruppen $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ eller $-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$, som ikke er nævnt specifikt i britisk patentskrift nr. 1.321.591, har/op til i de foretrukne niveauer som angivet ovenfor enhver af egenskaberne lav toksisitet, lav osmolalitet, lav viskositet, høj stabilitet og evne til at danne opløsninger med høje koncentrationer, og de repræsenterer således en væsentlig og værdifuld fordel i forhold til de forbindelser der generelt er angivet i det ovennævnte britiske patentskrift.

Den foreliggende opfindelse angår således 5-(N-2-hydroxyætylacetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid (i det følgende betegnet forbindelse I) og 5-(N-2,3-dihydroxypropylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid (i de følgende betegnet forbindelse II). Forbindelse I og forbindelse II indeholder mindst to chirale centre og eksisterer således i optisk aktive former som beskrevet mere detaljeret i det følgende. Den foreliggende opfindelse indbefatter således d-, l-, racemiske og meso-former af forbindelserne I og II.

Forbindelsen med formel I, hvor R er gruppen $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, (forbindelse I) har vist sig at have (1) en intravenøs toksisitet (LD_{50} i.v.) hos mus på 21.900 mg I/kg og en intracerebral toksisitet (LD_{50} i.c.) hos mus på over 1.500 mg I/kg, (2) nefrotoksitet hos kanin større end 10.500 mg I/kg, (3) evne til at danne opløsninger i høj koncentration, dvs. mindst 400-500 mg I/ml, (4) lav osmolalitet: 0,46 Os/kg i en koncentration på 280 mg I/kg, 0,64

Os/kg i en koncentration på 380 mg I/ml (bestemt ved interpolation) og 0,50 (kryoskopisk) i en koncentration på 300 mg I/ml, og (5) en viskositet på 4,1 cP ved 37°C og 7,4 cP ved 20°C, idet koncentrationen i begge tilfælde er 280 mg I/ml, og en viskositet på 5,0 cP ved 37°C og 9,3 ved 20°C, hvor koncentrationen i begge tilfælde ^{er} 300 mg I/ml.

Forbindelsen med formel I hvor R er gruppen $-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$, (forbindelsen II) har vist sig at have (1) en intravenøs toksisitet (LD_{50} i.v.) hos mus på 23.400 mg I/kg og en intracerebral toksisitet (LD_{50} i.c.) hos mus på større end 1.500 mg I/kg, (2) nefrotoksitet hos kanin større end 10.500 mg I/kg, (3) evne til at danne opløsninger i høj koncentration, dvs. mindst 400-500 mg I/ml, (4) lav viskositet på 6,2 cP ved 37°C og 12,6 cP ved 20°C, hvor koncentration i begge tilfælde er 300 mg I/ml og (5) lav osmolalitet (kryoskopisk) 0,65 Os/kg ved en koncentration på 300 mg I/ml.

Med hensyn til stabiliteten kan begge forbindelserne med formel I autoklaveres ved pH 5.

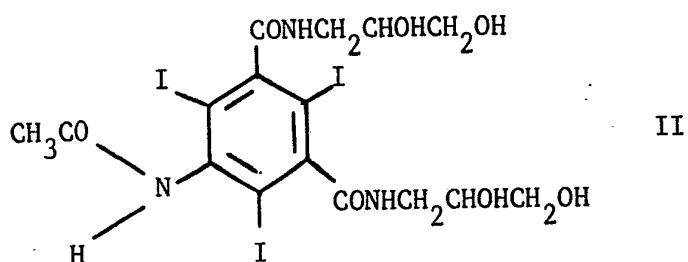
Således opfylder forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse alle de forskellige kriterier der er opstillet med hensyn til egenskaber af forbindelser med særlig interesse som røntgenkontrastmidler indbefattet let fremstilling (se nedenfor).

Den foreliggende opfindelse tilvejebringer også radiologiske præparater der som aktiv ingrediens indeholder en forbindelse med formel I som defineret ovenfor sammen med en radiologisk bærer.

De omhandlede radiologiske præparater foreligger hensigtsmæssigt i en form der er egnet til indgift ved indsprøjtning, fx i ampuller eller hætteflasker. Kapaciteten af ampullen eller hætteflasken kan fx være fra 5-300 ml og koncentration kan fx være fra 20-500 ml I/ml.

Forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse kan fremstilles på en hvilken som helst hensigtsmæssig måde, men følgende fremgangsmåde er af særlig interesse.

Forbindelserne med formel I som defineret ovenfor kan fremstilles ved at man omsætter en forbindelse med formlen



eller et O-acetylderivat deraf, med et passende hydroxyalkyleringsmiddel, fx en forbindelse med formlen



hvor R har den ovenfor angivne betydning og X er et atom eller en gruppe der kan fjernes som anion, hvorefter man om nødvendigt borthydrolyserer en hvilken som helst uønsket O-acetylgruppe, hvorved der vindes en forbindelse med formel I som defineret ovenfor.

Det vil forstås at hydroxyalkyleringsmidlet vælges til at indføre enten en 2-hydroxyetylgruppe eller en 2,3-dihydroxypropylgruppe i forbindelsen med formel II. Således er fx forbindelsen med formel III der fortrinsvis anvendes et reaktionsdygtigt esterderivat såsom en forbindelse med formel III, hvor X er et halogenatom, fx et kloratom eller et bromatom eller en sulfatgruppe eller en kulbrintesulfatgruppe, fx en tosylgruppe eller mesylgruppe. Det reaktionsdygtige derivat omsættes fortrinsvis med acylamido-udgangsmaterialet under basiske betingelser, fx et ikke-vandigt medium, fx en alkohol såsom metanol eller ætanol, og basen er hensigtsmæssigt et alkalimetalkoxid såsom natriummetoxid, eller i et vandigt alkalisk medium der fx indeholder et alkalimetalkhydroxid såsom natrium- eller kaliumhydroxid. Det er også muligt at omsætte acylamidoforbindelsen med et epoxid, fx ætylenoxid eller glycid.

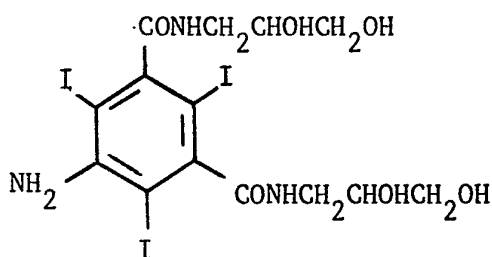
Således kan fx forbindelsen med formel I hvor R er en 2-hydroxyetylgruppe, fremstilles ved omsætning af en forbindelse med formel II med 2-klorætanol, fortrinsvis i nærværelse af propylen-glykol med fx natriummetoxid som base.

Tilsvarende kan forbindelsen med formel I, hvor R er en 2,3-hydroxypropylgruppe, fx fremstilles ved omsætning af en forbindelse med formel II med 3-klorpropan-1,2-diol, fortrinsvis i

nærværelse af propylenglykol med fx natriummetoxid som base.

Forbindelsen med formel II kan fremstilles på en hvilken som helst hensigtsmæssig måde, fx ved omsætning af 5-acetamido-2,4,6-trijodisofthaloylchlorid og/eller 5-diacetylamino-2,4,6-trijodisofthaloylchlorid med 2,3-dihydroxypropylamin efterfulgt, når 5-diacetylet er anvendt, af fjernelsen af den ene N-acetylgruppe, fx ved alkalisk hydrolyse ved svagt forhøjet temperatur. Reaktionen kan fx gennemføres i nærværelse af dimetylformamid eller dioxan som opløsningsmiddel, hensigtsmæssigt i yderligere nærværelse af et alkalimetal- eller jordalkalimetal-karbonat eller bikarbonat såsom kaliumbikarbonat.

Forbindelsen med formel II kan fx også fremstilles ved acetylering af en forbindelse med formlen



IV

Acetylering kan gennemføres ved hjælp af en hvilken som helst hensigtsmæssig metode, fx ved anvendelse af eddikesyreanhydrid (som også kan tjene som opløsningsmiddel) sammen med katalytiske mængder af en mineralsyre, fx svovlsyre eller perklorsyre, eller ved anvendelse af et syrehalogenid, fortrinsvis i et polært opløsningsmiddel såsom dimetylformamid eller dimetylacetamid. Hvor der dannes uønskede O-acetylgrupper kan disse fjernes enten på dette trin eller efter hydroxyalkyleringen af den O-acetylerede forbindelse. Den basiske hydrolyse af O-acetylgruppen kan fx udføres under anvendelse af vandigt alkalimetalhydroxyd, fx natriumhydroxyd, idet reaktionen fortrinsvis gennemføres ved svagt forhøjet temperatur, fx ca. 50°C.

Der kan desuden afhængigt af det anvendte acyleringsmiddel dannes andre produkter som kræver adskillelse. Når der anvendes et syreanhydrid, såsom eddikesyreanhydrid, med koncentreret svovlsyre som katalysator, bliver den primære aminogruppe ofte delvis bis-

acyleret, således at der opnås et overacetyleret produkt. Sædvanligvis vindes en blanding af acetylerede produkter. Om ønsket kan bis-acetylaminogruppen hydrolyseres til mono-acetylaminogruppen under milde basiske betingelser, fx ved anvendelse af natriumhydroxid i fx metanol før en N-hydroxyalkylering. Det er imidlertid også muligt at gennemføre N-hydroxyalkyleringer under anvendelse af bis-acetylaminoforbindelsen under samtidig solvolyse.

Forbindelsen ^{formel} med/IV fremstilles fortrinsvis først ved jodering af 5-amino-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid. Jodineringen kan fx udføres ved anvendelse af NaICl₂ eller et hvilket som helst hensigtsmæssigt joderingsmiddel.

5-Amino-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid fremstilles fortrinsvis ved reduktion af 5-nitro-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid, fx ved hydrogenering i nærværelse af en hydrogeneringskatalysator såsom platin, palladium eller PdO/trækul.

5-Nitro-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid fremstilles fortrinsvis ved omsætning af dimetyl-5-nitro-isofthalat med 3-amino-1,2-propandiol. Reaktionen kan fx gennemføres ved en forhøjet temperatur, fx i kogende metanol.

Der kan således hensigtsmæssigt benyttes en flertrinsproces til at fremstille forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse i højt udbytte. Det vil forstås at en yderligere fordel ved forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse ligger i den lethed og det høje udbytte hvormed de kan fremstilles sammenlignet med mange tidligere kendte forbindelser.

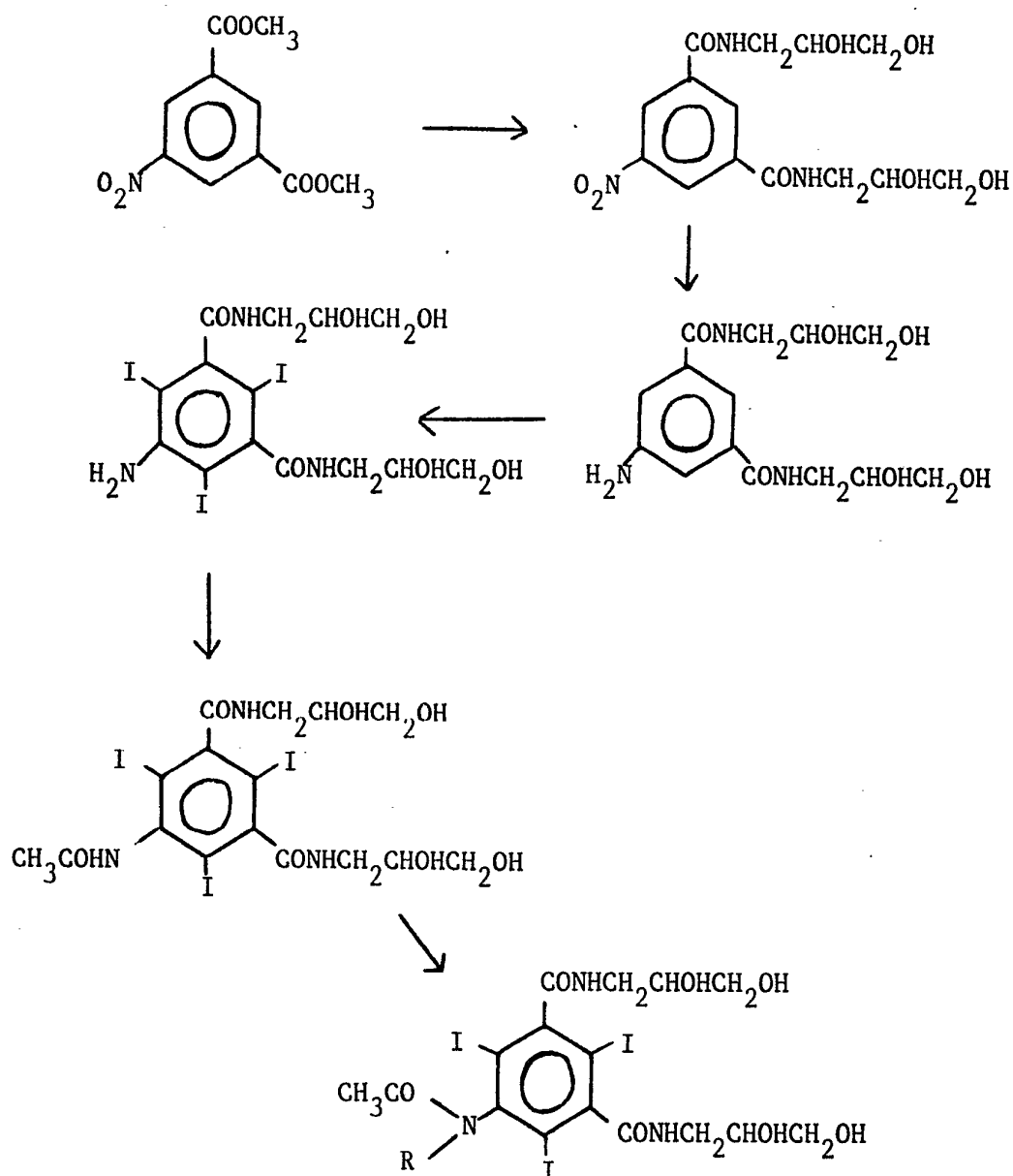
Således er der fx 2 typer ioniske 2,4,6-trijodbenzoesyre som for tiden anvendes kommercielt, nemlig sådanne afledt af 3,5-diamino-2,4,6-trijodbenzoesyre og sådanne der afledt af 3-amino-2,4,6-trijodisofthalsyre. De fleste af de ikke-ioniske røntgenstrålekontrastmidler der beskrives i det ovennævnte britiske patentskrift er amidderivater af disse to grupper. Den eneste forbindelse af den førstnævnte type som har en samling af parametre der nærmer sig de ovenfor angivne foretrukne minimumsniveauer er N-(N-metyl-3,5-diacetamid-2,4,6-trijodbenzoyl)-D-glukamin, skønt denne forbindelses intravaskulære toksisitet, nefrotoksitet og viskositet er temmelig høj. Det vil ses at i dette tilfælde er 3- og 5-aminogruupperne substitueret forskelligt. Denne forbindelse

fremstilles udfra 3,5-dinitrobenzoesyre ved hjælp af følgende trin: (1) selektiv reduktion af den ene nitrogruppe, (2) acetylering af den således dannede aminogruppe, (3) reduktion af den anden nitrogruppe, (4) trijodering, (5) metylering af acetamidogruppen, (6) omdannelse af karboxylgruppen til et syrehalogenid, (7) acetylering af den frie aminogruppe, og (8) omsætning med 1-glukamin (som ikke er tilgængelig i handelen og derfor også må syntetiseres). Metyleringsreaktionen (5) må gennemføres efter jodering-reaktionen (4) hvis der skal opnås en fuldstændig selektiv reaktion og da jodering er kostbar, vil tab som følge af yderligere omsætninger efter joderingen i høj grad forøge produktets pris.

På tilsvarende måde er den eneste forbindelse af isoftalsyretypen som har en samling af parametre der nærmer sig de ovenfor fastlagte foretrukne minimumsniveauer (3-acetamido-5-N-metylkarbamoyl-2,4,6-trijodbenzoyl)-N-metylglukamin, selvom dens opløselighed i vand er utilfredsstillende. Denne forbindelse indeholder forskelligt substituerede karboxylgrupper. Den fremstilles ud fra 3-nitro-isoftalsyre ved (1) selektiv mono-forestring, (2) amidering af estergruppen med metylamin, (3) reduktion af nitrogruppen, (4) jodering, (5) acetylering af aminogruppen, (6) omdannelse af karboxylgruppen til syrehalogenid, og (7) omsætning med N-metylglukamin. Igen er det nødvendigt at gennemføre selektive reaktioner og den anden karbamoylgruppe må indføres efter det kostbare trijoderingstrin for at sikre selektiv omsætning.

Begge de ovenfor nævnte forbindelser er beskrevet i det tidligere nævnte britiske patentskrift.

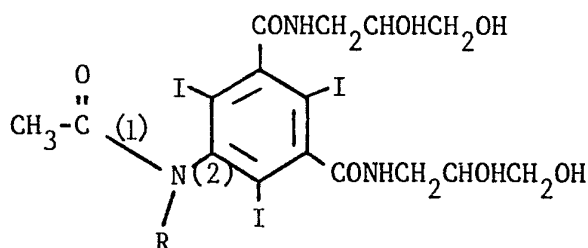
I modsætning dertil har de to forbindelser ifølge den foreliggende opfindelse, skønt de er afledt af 3-nitroisofthalsyre, identiske karbamoylgrupper og kan vindes ved en 6-trins syntese hvori der ikke er nogen selektive reaktioner. Det første trin er dannelse af de estere af den ovennævnte syre og de efterfølgende 5 trin er angivet i det følgende.



Det vil ses at denne fremgangsmåde gør det muligt at fremstille forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse på hensigtsmæssig måde ud fra let tilgængelige udgangsmaterialer i høje udbytter sammenlignet med de ovenfor nævnte kendte forbindelser.

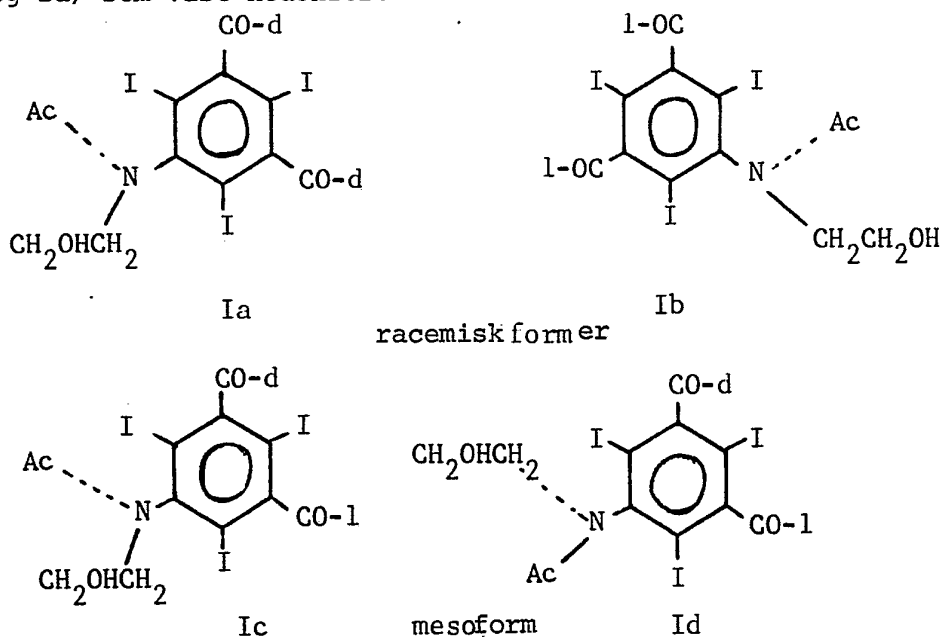
Forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse er genstand for et antal forskellige typer isomeri som forklaret i det

følgende. Den foreliggende opfindelse omfatter alle disse isomere former. Under henvisning til formelen



vil det forstås at der foreligger exo- og endo-isomerer på grund af begrænset rotation af N-CO-bindingen (1) forårsaget af sterisk hindring fra de hosliggende voluminøse jodioner og nærværelse af hydroxyalkylgruppen R bundet til det pågældende nitrogenatom. Disse isomerer har tendens til at ækvilibrere i opløsning men er tilstrækkelig stabile til at kunne adskilles ved tyndtlagskromatografi.

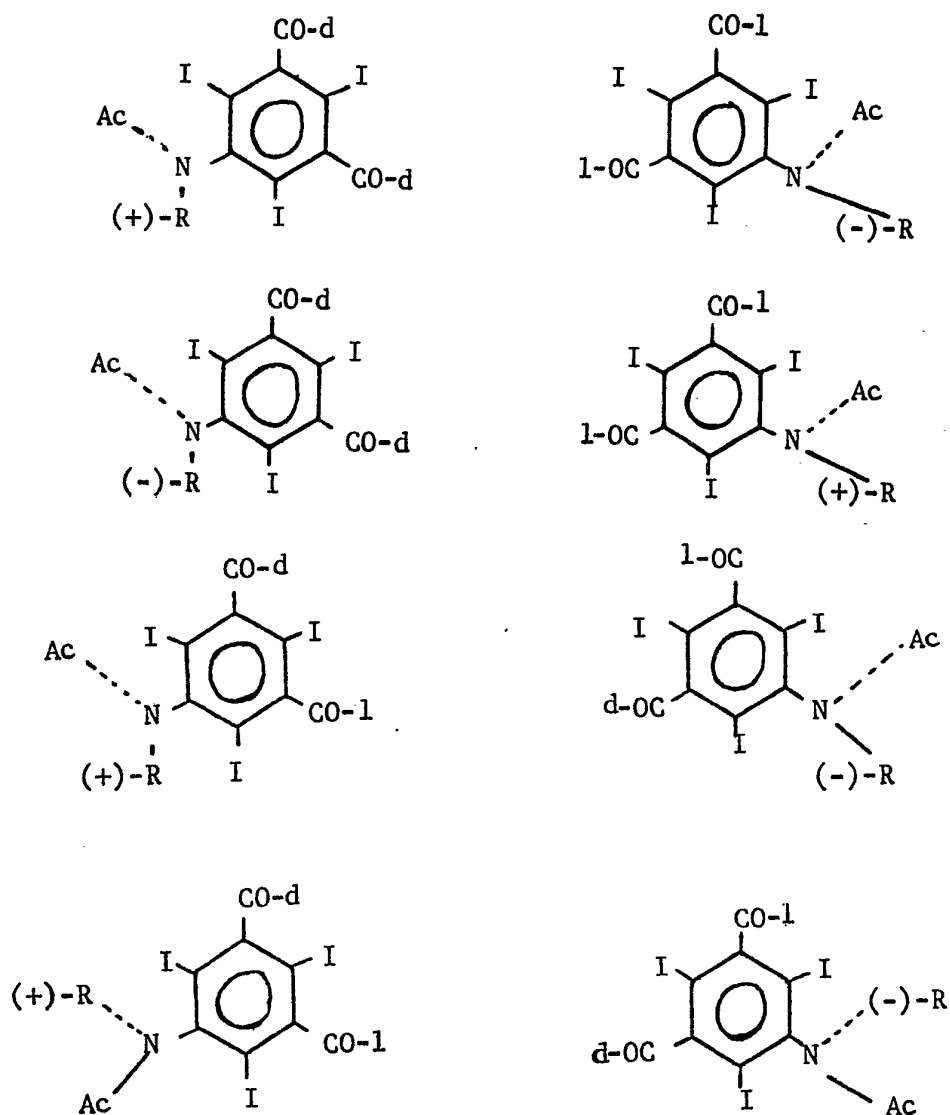
Forbindelserne ifølge den foreliggende opfindelse kan også eksistere i racemiske, optisk aktive og meso-former. Der er to mesoformer på grund af begrænset rotation af bindingen (2). Således findes forbindelsen med formel I hvor R er en 2-hydroxy-ætylgruppe, som et racemisk par (Ia og Ib) og i to mesoformer Ic og Id) som vist nedenfor:



d-H: (+)-CH₂OHCHOHCH₂NH₂

l-H: (-)-CH₂OHCHOHCH₂NH₂

Forbindelsen med formel I, hvor R er en 2,3-dihydroxypropylgruppe har et asymmetrisk centrum mere end forbindelsen med formel I hvor R er en 2-hydroxyætylgruppe og således foreligger den i fire racemiske par som vist nedenfor:



d-H: (+)-CH₂OHCHOHCH₂NH₂

l-H: (-)-CH₂OHCHOHCH₂NH₂

(+)-R: (+)-CH₂OHCHOH-CH₂-

(-)-R: (-)-CH₂OHCHOH-CH₂-

Det vil forstås at de individuelle stereoisomerer af forbindelserne ifølge opfindelsen lettest kan vindes ved konventionelle metoder. Således kan fx de individuelle optisk aktive isomerer vindes ved anvendelse af optisk aktive aminer til indføring af 2,3-dihydroxypropylgrupperne. Når man således fremstiller isomerer af forbindelsen I, indføres de 2,3-dihydroxypropylgrupper normalt samtidigt og ved anvendelse af de samme optisk aktive reagenser undgås dannelse af en mesoisomerer. Således vil forbindelsen med formel II til dette formål være en d,d- eller l,l-enantiomer. Separate optiske isomerer af forbindelserne med formel I kan om ønsket blandes i lige store mængder til dannelse af et racemat. Sådanne optisk aktive isomere materialer fremstillet på denne måde er særligt vandopløselige.

Alternativt kan en blanding af isomerer fremstillet ved anvendelse af en racemisk amin til indførelse af 2,3-dihydroxypropylgrupperne underkastes fraktionering. Navnlig kan en koncentreret opløsning af de blandede isomerer af forbindelse I dannet ved anvendelse af racemisk 2,3-dihydroxypropylamin i den forudgående syntese fraktioneres ved krystallisering til dannelse af en krystallinsk mesoisomer og en modervæske indeholdende opløseligt isomer-materiale som derpå om ønsket kan isoleres ved koncentreret og inddampning eller modervæsken kan anvendes direkte som kontrastmiddel.

Når man ønsker at fremstille optisk aktive eller racemiske forbindelser ifølge opfindelsen ud fra optisk aktive eller racemiske udgangsmaterialer kan forbindelser med formel I, hvor R er gruppen $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, fremstilles i optisk aktiv eller racemisk form ved omsætning af en forbindelse med formel II i optisk aktiv eller racemisk form med et passende hydroxyætyleringsmiddel.

Tilsvarende forbindelser med formel I, hvor R betegner gruppen $-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$, kan fremstilles i optisk aktiv eller racemisk form ved omsætning af en forbindelse med formel II i optisk aktiv eller racemisk form med et passende hydroxypropyleringsmiddel i optisk aktiv eller racemisk form.

Opfindelsen belyses nærmere i det følgende ved hjælp af nogle eksempler.

Fremstilling af udgangsmaterialerA) 5-Nitro-N,N','-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

a) 215 g dimetyl-5-nitroisofthalat og 196 g 1-amino-2,3-propandiol kogtes under tilbagesvaling i 500 ml metanol. Efter 20 timer afkøledes opløsningen og anbragtes i køleskab natten over. Derpå opsamledes produktet på et filter og vaskedes med metanol. Udbytte: 270 g (84%), smeltepunkt: en prøve sintrede ved ca. 114°C og smeltede ved 128-132°C.

Beregnet for $C_{14}H_{19}N_3O_8$: C 47,06 H 5,36 N 11,76

Fundet: 46,90 5,11 11,41%

b) (+)-5-nitro-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

(+)-amidet fremstilledes ud fra 13,6 g dimetyl-5-nitroisofthalat og 11,95 g (+)-3-aminopropandiol på en måde som svarer til den der er beskrevet ovenfor under a). Udbytte: 15,0 g (74%), $\alpha_{546} = +31,5^\circ$, $\alpha_{578} = +27,8^\circ$ (c = 4,2, metanol/vand = 60:40).

Forbindelsen blev en uklar smelte ved 130-133°C ved opvarmning i et kapillarrør.

Beregnet for $C_{14}H_{19}N_3O_8$: C 47,06 H 5,36 N 11,76

Fundet: 47,15 5,22 11,27%

Tyndtlagskromatografi (TLC) udførtes på i forvejen belagte plader (silikagel 60 F-254, Merck AG) og fremkaldtes i

A. MeOH/ $CHCl_3$ = 30 : 70 , $R_f = 0,38$

B. n-BuOH/HOAc/ H_2O = 50 : 11:25, $R_f = 0,49$

c) (-)-5-nitro-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

(-)-amidet fremstilledes ud fra 7,85 g (-)-3-aminopropan-1,2 og 9 g dimetyl-5-nitroisofthalat på en måde svarende til den der er beskrevet under a) ovenfor. Udbytte 9,3 g (69%),

$\alpha_{546} = -31,0^\circ$, $\alpha_{578} = -27,2^\circ$ (c = 3,1, MeOH/ H_2O = 60 : 40).

Forbindelsen blev en uklar smelte ved 135-137°C ved opvarmning i et kapillarrør.

Beregnet for $C_{14}H_{19}N_3O_8$: C 47,06 H 5,36 N 11,76

Fundet: 46,91 5,49 11,72%

TLC udførtes som beskrevet under b) ovenfor.

System A: $R_f = 0,38$

System B: $R_f = 0,49$

B) 5-Amino-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-
isofhtalamid

a) 18,1 g 5-nitro-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid suspenderedes i 250 ml vand, der tilsattes 4,2 ml koncentreret saltsyre og 0,5 g 10% PdO/trækul og blandingen hydrogeneredes i et Parr-apparat i ét døgn. Efter filtrering opvarmedes filtratet til 80-90°C 42,5 ml 3,88 M NaICl₂ tilsattes ved hjælp af en dråbetragt i løbet af en periode på ca. 1 time. Opløsningen opvarmedes i yderligere 2 1/2 time. Efter afkøling til stuetemperatur udkrystalliserede produktet.

Udbytte: 25,1 g (71%). Produktet sintredes ved 177-179°C og sønderdeltes ved 195°C ved opvarmning i kapillarrør.

Beregnet for C₁₄H₁₈I₃N₃O₆: C 23,85 H 2,57 I 54,00 N 5,96

Fundet: 23,86 2,49 53,7 5,94%

b) (+)-5-amino-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-
isofhtalamid

Forbindelsen fremstilledes ud fra 14,25 g (+)-5-nitro-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid ved reduktion af nitrogruppen med hydrogen og palladium på trækul og til sidst joderedes med en vandig opløsning af NaICl₂ på en måde svarende til den der er beskrevet under B (a) ovenfor. Udbytte: 22,3 g (79%).

$\alpha_{546} = +3,7$, $\alpha_{578} = +3,5^\circ$ (c = 4,4, DMF/H₂O = 2 : 8)

Forbindelsen begyndte at smelte ved 204°C og sønderdeltes ved 213°C.

Beregnet for C₁₄H₁₈I₃N₃O₆: C 23,85 H 2,57 I 54,00 N 5,96

Fundet: 23,87 2,60 53,4 6,01%

TLC udførtes som beskrevet ovenfor A (b).

$R_f = 0,38$ i system A

$R_f = 0,50$ i system B

c) (-)-5-amino-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid

Den venstredrejende forbindelse fremstilledes ud fra 6,2 g (-)-5-nitro-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid på samme måde som beskrevet ovenfor under B (a). Udbytte: 9,3 g (76%), $\alpha_{546} = 3,8^{\circ}$, $\alpha_{578} = -3,4^{\circ}$ ($c = 4,4$, DMF/H₂O = 20:80) Forbindelsen begyndte at smelte ved 203°C og sønderdeltes ved 217°C. Beregnet for C₁₄H₁₈I₃N₃O₆: C 23,85 H 2,57 I 54,00 N 5,96
Fundet: 23,72 2,62 53,2 5,81%

TLC udførtes som beskrevet ovenfor under A(b).

$R_f = 0,38$ i system A

$R_f = 0,50$ i system B

C) 5-Acetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid

a) 110 g 5-amino-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid suspenderes i 480 ml eddikesyreanhydrid og opvarmedes til 50°C. Der tilsættes derpå 3 ml koncentreret svovlsyre. Udgangsmaterialet opløstes efter få minutter og reaktionsblandingen opvarmedes til 60°C i 75 minutter. Efter afkøling koncentreredes opløsningen under vakuum og remanensen opløstes i 300 ml metanol. Efter fortynding med 150 ml vand opvarmedes opløsningen til 50°C og pH indstilledes til ca. 10,5 ved tilsætning af 10N natriumhydroxid. Da pH faldt indstilledes den ved tilsætning af yderligere 10N natriumhydroxid på en sådan måde at pH holdtes på 10,0-10,9. Efter 4-5 timer faldt pH-værdien ikke mere og hydrolysen var tilendebragt. Reaktionsblandingen afkøledes til stuetemperatur og neutraliseredes ved tilsætning af saltsyre. Efter omrøring natten over opsamledes produktet på et filter og vaskedes med vand. Udbytte: 94 g (80%), smeltepunkt: 275°C under sønderdeling.

Det infrarøde spektrum var identisk med det infrarøde spektrum for en forbindelse der tidligere er karakteriseret som den i overskriften angivne forbindelse.

Beregnet for C₁₆H₂₀I₃N₃O₇: I 50,95

Fundet: 50,3%

b) (+)-5-acetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid

Den højredrejende forbindelse fremstilledes ud fra 21 g (+)-5-amino-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid ved acetylering og efterfølgende hydrolyse ved pH 10-11 på en måde svarende til den der er beskrevet ovenfor under C a).

Tilslidst omkrystalliseredes produktet fra vand. Udbytte: 13,6 g (61%), $\alpha_{545} = +4,0^\circ$, $\alpha_{578} = +3,8^\circ$ (c = 4,5, DMF/H₂O = 2:8). Smeltepunkt: 285-289°C under sønderdeling.

Beregnet for C₁₆H₂₀I₃N₃O₇: C 25,72 H 2,70 I 50,95 N 5,62

Fundet: 25,80 2,50 50,6 5,71

TLC udførtes som beskrevet ovenfor under A b)

$R_f = 0,30$ i system A

$R_f = 0,39$ i system B

c) (-)-5-acetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid

(-)-Forbindelsen fremstilledes ud fra 14 g (-)-5-amino-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofhtalamid på en måde svarende til den der er beskrevet ovenfor under C a).

Produktet rensedes ved omkrystallisation fra vand. Udbytte: 9 g (61%), $\alpha_{546} = -4,2^\circ$, $\alpha_{578} = -3,8^\circ$ (c = 4,5, DMF/H₂O = 2:8). Smeltepunkt 287-298°C under sønderdeling.

Beregnet for C₁₆H₂₀I₃N₃O₇: C 25,72 H 2,70 I 50,95 N 5,62

Fundet: 25,77 2,72 50,7 5,62

TLC udførtes som beskrevet ovenfor under A b).

$R_f = 0,30$ i system A

$R_f = 0,39$ i system B

Eksempel 15-(N-2-Hydroxyætylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

a) 22,4 g (30 mmol) 5-acetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid opløstes i en blanding af 65 ml propylenglycol og 9,6 ml (48 mmol) 5,0 N natriummetoxid under opvarmning. Overskud af metanol afdampedes under vakuum. Opløsningen opvarmedes derpå på et oliebad ved 50°C og der tilsattes 3 ml (45 mmol) 2-klorætanol under kraftig omrøring. Efter 5 timer afkøledes reaktionsblandingen til stuetemperatur og reaktionsproduktet udfældedes ved til reaktionsblandingen gennem en dråbe-tragt at sætte 1 l acetone under omrøring. Blandingen henstod nat-ten over ved -20°C, filtreredes fra, suspenderedes to gange i acetone og tørredes. Udbytte: 24,8 g. Produktet opløstes derpå i 100 ml vand og opløsningen ekstraheredes med fenol (3x20 ml + 2x10 ml). De forenede fenolekstrakter vaskedes med 2x20 ml vand fortynde-des med 160 ml æter og ekstraheredes med 4x30 ml vand. Til sidst vaskedes det vandige lag med 4x30 ml æter. Den vandige opløsning inddampedes til tørhed under vakuum. Derpå opløstes produktet i 100 ml 80 rumfangs% vandig metanol og omrørtes med "Dowex" anion-bytterharpiks 1x4 (3 g) og 1,5 g "Amberlite" kationbytterharpiks 1R 120 H i fire timer. Efter filtrering inddampedes filtratet til tørhed under vakuum. Udbytte: 19 g (80%). Forbindelsen opløstes under omrøring i 315 ml n-butanol ved opvarmning i et oliebad ved 90°C. Efter podning startede krystaller der var uopløselige i varm n-butanol at krystallisere efter en halv time. Efter opvarm-ning i to dage filtreredes blandingen i varm tilstand. Produktet opløstes i vand og opløsningen inddampedes til tørhed under vakuum. Udbytte: ^{fra}14 g. Omkrystallisationsproceduren n-butanol blev gentaget. Til sidst opløstes produktet i vand, opvarmedes med trækul og ind-dampedes under vakuum til tørhed. Udbytte: 9,9 g, smeltepunkt 180-220°C under sønderdeling.

Beregnet for $C_{18}H_{24}I_3N_3O_8$:	C 27,33	H 3,06	I 48,12	N 5,31
Fundet:	C 26,88	H 3,05	I 48,12	N 5,01%

b) Adskillelse af opløselige og uopløselige komponenter af
5-(N-2-hydroxyætylacetamido)-2,4,6-trijod-1,3-bis-N,N'-
(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

Det amorf materiale opløses under omrøring i to til fem timer i sin egen vægtmængde koldt destilleret vand. Når opløsningen er fuldstændt stoppes omrøringen og opløsningen holdes ved stuetemperatur beskyttet mod sollys og andre kraftige lyskilder i en periode på en til fem uger. Suspensionen kan af og til omrøres. Krystallisationsprocessen kan følges ved at måle refraktionsindekset af den ovenstående væske: når dette er konstant opsamles det uopløselige materiale ved filtrering. Den opløselige del vindes ved inddampning under nedsat tryk ved en temperatur mellem 20 og 80°C. Der vindes omtrent lige store mængder opløselig og uopløselig komponent. Sammensætningen af hver komponent med hensyn til den mængde der stadig er til stede af den anden komponent kan bestemmes ved kernemagnetisk resonansspektroskopi. Et proton-kernemagnetisk resonansspektrum af en 10% opløsning (v/r, vægt/rumfang dvs svarende til forholdet mellem gram og ml) af forbindelsen i deuteropyridin optegnes på et kernemagnetisk resonans-instrument med et meget højt magnetfelt, virkende ved en frekvens på 250 MHz eller derover. Ved udvidelse af spektret til en skala på 5Hz eller mindre pr. cm findes acetylmetylgruppen i exo-N-hydroxyætylacetamido-gruppen ved ca. 1,4-1,5 ppm fra TMS (variation på grund af temperatur og koncentration) som to skarpe singletter adskilt med ca. 0,01 ppm (2,3 Hz ved 250 MHz, 2,6 Hz ved 270 MHz). Toppen ved et noget lavere felt er fra den opløselige komponent, mens den ved det højere felt er fra den uopløselige komponent, og de indbyrdes intensiteter af disse toppe gør det muligt at bestemme sammensætningen af et hvilket som helst produkt.

c) (-)-5-(N-2-Hydroxyætylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-
dihydroxypropyl)-isofthalamid

Den venstredrejende forbindelse fremstilledes ud fra 8 g (-)-5-acetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid på samme måde som beskrevet i eksempel 1(a). Efter at reaktionen var tilendebragt fortyndedes reaktionsblandingen med vand, neutraliseredes med saltsyre og inddampedes under vakuum. Den olieagtige remanens opløstes i 50 ml metanol og saltene filtre-

redes fra (filtrat F). 10-15 ml silikagel (0,063-0,200 mm) sættes til 25 ml af filtrat F og opslæmningen inddampedes til tørhed under vakuum. En opslæmning heraf i en blanding af MeOH/CHCl₃ (20:80) påførtes en kromatografikolonne (35x2,5 cm) med silikagel (partikelstørrelse 0,063-0,200 mm). Elueringen startedes med en blanding af MeOH/CHCl₃ (20:80) og forandredes gradvis til en blanding af MeOH/CHCl₃ (60:40). Søjlekromatografien blev fulgt med TLC (system A). De fraktioner der indeholdt det rene produkt opsamledes og inddampedes under vakuum. Remanensen opløstes i vand og behandledes med trækul ved stuetemperatur. Efter filtrering inddampedes filtratet til tørhed under vakuum. Derpå opløstes produktet i 20 ml 80 rumfangs% vandigt metanol og omrørtes med "Amberlite" kationbytterharpiks IR 120H og "Dowex" anionbytterharpiks lx4 i tilstrækkelige mængder til at fjerne saltene. Efter filtrering inddampedes opløsningen til tørhed under vakuum, remanensen opløstes i vand og inddampedes atter til tørhed.

Den resterende del af det metanoliske filtrat F behandles på samme måde. Udbytte: 4,4 g (52%), $\alpha_{546} = -5,5^\circ$, $\alpha_{578} = -4,7^\circ$ (c=20,0, vand).

Smeltepunktet for forbindelsen er ikke særlig karakteristisk. Ved opvarmning i et kapillarrør blev det faste stof ved ca. 180°C en uklar smelte som frigjorde jod ved yderligere opvarmning. TLC udførtes som beskrevet ovenfor under A(b).

$R_f = 0,31$ i system A

0,31 (endo-isomer) og

$R_f = 0,42$ (exo-isomer) i system B.

Beregnet for C ₁₈ H ₂₄ I ₃ N ₃ O ₈ :	C 27,33	H 3,06	I 48,12	N 5,31
Fundet:	C 27,58	H 3,10	I 48,2	N 4,78%

d) (+)-5-(N-2-Hydroxyetylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

Den højredrejende forbindelse fremstilledes ud fra 8 g (+)-5-acetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid på en måde svarende til den der er beskrevet ovenfor under fremstillingen af den tilsvarende venstredrejende forbindelse (eksempel 1c). Udbytte: 3,8 g (45%), $\alpha_{546} = +5,5^\circ$, $\alpha_{578} = +4,8^\circ$ (c = 20,0, vand).

Forbindelsens smeltepunkt er ikke særlig karakteristisk. Ved opvarmning i et kapillarrør sintres det faste stof ved ca. 165°C og frigiver jod ved 205°C ved yderligere opvarmning. Tlc udførtes som beskrevet ovenfor under A(b).

$R_f = 0,31$ i system A

0,31 (endo-isomer) og

$R_f = 0,42$ (exo-isomer) i system B

Beregnet for: $C_{18}H_{24}I_3N_3O_8$: C 27,33 H 3,06 I 48,12 N 5,31

Fundet: C 27,56 H 3,06 I 48,0 N 5,20

Vandig opløsning af racemisk 5-(N-2-hydroxyetylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

624 mg af hver af enantiomererne blandedes og opløstes i destilleret vand til 2 ml, hvilket gav en klar opløsning som indeholdt ca. 300 mg I/ml.

Eksempel 2

5-(N-2,3-Dihydroxypropylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid

37,4 g (50mmol) 5-acetamido-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid opløstes i 110 ml propylenglykol ved tilsætning af 14,2 ml (75 mmol) 5,3M natriummetoxyd og opvarmning i et oliebad ved 50°C. Da hele eller næsten hele udgangsmaterialet var opløst afdampedes overskydende metanol under vakuum. Efter afkøling til stuetemperatur tilsattes 6,3 ml (75 mmol) 3-klorpropan-1,2-diol. Da reaktionsblandingen påførtes til TLC i system B efter omrøring i 2 dage blev der observeret to nye pletter med R_f -værdier 0,26 og 0,33 i et forhold på ca. 1:9 og mindre end 0,5% af udgangsmaterialet ved R_f 0,42. De nye pletter blev antaget at repræsentere endo/exo-isomererne. Reaktionsblandingen indampedes under vakuum og remanensen opløstes i 125 ml metanol. En lille mængde uopløst materiale filtreredes fra og der tilsattes 30 ml vand. Denne opløsning behandledes med en blanding af 27,5 g "Amberlite" kationbytterharpiks IR 120H og 50 g "Dowex" anionbytterharpiks 1 x 4 i 2 timer. Efter filtrering indstilledes opløsningens pH til 4,9 og indampedes derpå under vakuum. Den olieagtige remanens tritureredes i 125^{ml}/butanol. Ved at følge denne behandling ud-

krystalliserede produktet. Efter henstand ved -20°C filtreredes produktet fra. Derpå opløstes produktet i vand og opløsningen inddampedes under vakuum. Udbytte 38 g.

Derefter blev produktet opløst i 760 ml butanol ved 90°C og omrørt ved denne temperatur. Krystaller der er uopløselige i varm butanol begyndte at udkrystallisere efter en time. Den næste dag filtreredes den varme blanding. Produktet opløstes i vand og opløsningen inddampedes under vakuum. Udbytte 27,6 g. Denne omkrystallisationsprocedure fra butanol blev gentaget en gang. Til sidst opløstes produktet i vand og inddampedes til tørhed. Remanensen genopløstes i vand og opløsningen inddampedes under vakuum. Udbytte: 22 g, smeltepunkt $174-180^{\circ}\text{C}$.

Beregnet for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{I}_3\text{N}_3\text{O}_9$:

C 27,79	H 3,19	I 46,36	N 5,12	O 17,54
Fundet: C 27,98	H 3,38	I 46,0	N 5,24	O 17,27%

Eksempel 3

Forbindelse I til infusion, 150 mg I/ml

Præparat:	1 liter
Forbindelse I:	312 g
Natriumkalciumedetat: (ætylendiamintetraacetat)	0,2 g
Vand til indsprøjtning	til 1000 ml
HCl 0,1M efter behov til at give pH 5	

Fremstillingsprocedure:

Forbindelse I og edetatet opløses i ca. 950 ml vand til indsprøjtning. pH indstilles til 5,0 ved hjælp af 0,1M saltsyre. Vand til indsprøjtning tilsættes til at give ialt 1000 ml. Opløsningen membranfiltreres og tappes i flasker på 250 ml. Flaskerne autoklaveres i 20 min. ved 120°C .

Eksempel 4

Forbindelse I til indsprøjtning, 280 mg I/ml

Præparat:	1 liter
Forbindelse I:	582 g
Natriumkalciumedetat:	0,2 g
Vand til indsprøjtning	til 1000 ml
HCl 0,1M efter behov til at give pH 5,0	

Fremstillingsprocedure: som eksempel 3. Opløsningen fyldes på hætteflasker på 100 ml eller ampuller på 20 ml.

Eksempel 5

Forbindelse I til indsprøjtning, 440 mg I/ml

Præparat:	1 liter
Forbindelse I:	915 g
Natriumkaliumedetat:	0,25 g
Vand til indsprøjtning	til 1000 ml
HCl 0,1M efter behov til at give pH 5,0	

Fremstillingsprocedure: som i eksempel 3. Opløsningen hældes på hætteglas på 50 ml eller ampuller på 20 ml. Hvis der skulle ønskes en pH-værdi på 7,0-7,5 kan der tilsættes en fysiologisk steril pufferopløsning umiddelbart før indsprøjtningen.

Eksempel 6

Forbindelse II til infusion, 150 mg I/ml

Præparat:	1 liter
Forbindelse II:	324 g
Natriumkaliumedetat: (ætylendiamintetraacetat)	0,2 g
Vand til indsprøjtning	til 1000 ml
HCl 0,1M efter behov til at give pH 5	

Fremstillingsprocedure:

Forbindelse II og edetatet opløses i ca. 950 ml vand til
indsprøjtning. pH indstilles til 5,0 ved hjælp af 0,1M saltsyre.

Vand til indsprøjtning tilsættes til at give 1000 ml.

Opløsningen membranfiltreres og hældes på flasker af 250 ml.

Flaskerne autoklaveres i 20 min. ved 120°C.

Sammenligningsforsøg A

Der er foretaget en sammenligning mellem forbindelserne I og II ifølge opfindelsen og repræsentative forbindelser kendt fra DK patentskrift nr 130.709, nemlig de forbindelser der i det nævnte patentskrift betegnes forbindelse nr 9, 11, 12, 15, 18 og 33 dvs:

9. 3,5-Bis- $\bar{N}$ -(2,3-dihydroxypropyl)-N-metylkarbamoyl $\bar{7}$ -2,4,6-trijodacetanilid
11. N-(N-metyl-3,5-diacetamido-2,4,6-trijodbenzoyl)-glukosamin
12. N- $\bar{N}$,N'-di-(β -hydroxyetyl)3,5-diacetamido-2,4,6-trijodbenzoyl $\bar{7}$ -glukosamin
15. N-(N-metyl-3,5-diacetamido-2,4,6-trijodbenzoyl)-2-glukamin
18. 3,5-Bis- $\bar{N}$ -(2',3'-dihydroxypropyl)-N-metylkarbamoyl $\bar{7}$ -N-(2'-hydroxyetyl)-2,4,6-trijodacetanilid
33. N- $\bar{3}$ -N-metylacetamido-5-N-(β -hydroxyetyl)-acetamido-2,4,6-trijodbenzoyl $\bar{7}$ -N-metylglukamin

Alle de afprøvede forbindelser har evne til at danne opløsninger med høj koncentration.

De vundne resultater fra bestemmelse af toksisitet, viskositet og osmolalitet, dvs. tre af de essentielle parametre der skal ligge på et tilfredsstillende niveau hvis forbindelserne skal kunne anvendes som et generelt røntgenkontrastmiddel, er vist i følgende tabel 1. I tabellen angives også de i beskrivelsens indledning nævnte grænseværdier for disse parametre.

Tabel 1

Forbindelse nr	Toksisitet LD ₅₀ mg I/kg			Viskositet (cp)		Osmolalitet Mol/kg
	Intravenøs mus	Intracerebral mus	Nyre kanin	20°C	37°C	
I	21.900	>1500	>10.500	9,3	5,0	0,50
II	23.400	>1500	>10.500	12,5	6,2	0,65
Parametergrænseværdier	≥17.000	>1500	≥ 8.000	-	≤6,5	~0,75
9	13.500	>1500	~ 5.000	7,1	4,1	0,54
11	17.500	>1500	> 7.500	12,2	6,1	0,43
12	~12.000	>1500	-	14,6	7,3	-
15	>15.000	>1500	~ 5.000	11,5	5,8	0,67
18	9.000	-	-	10,6	5,5	0,58
33	>15.000	>1500	7.500	11,0	5,7	0,48

Det fremgår af tabellen at forbindelserne I og II ifølge opfindelsen tilfredsstiller de nævnte parametre, mens ingen af de kendte forbindelser opfylder alle de parametre, der kræves for at de skal kunne anvendes til alle former for intravaskulær visualisering og myelografi.

Mens således forbindelse nr 9 har tilfredsstillende opløselighed, viskositet og osmolalitet er den intravenøse toksisitet og især nefrotoksisiteten for stor til at denne forbindelse kan være velegnet som et generelt røntgenkontrastmiddel. Kontrastmidler specielt til vaskulær anvendelse indsprøjtes i høje doser og udskilles meget hurtigt gennem nyrene. Det er derfor af vital betydning at et kontrastmiddel har en så lav nefrotoksisitet som muligt for at undgå stress og beskadigelse af nyrene.

Forbindelse nr 11 (metrizamid) har en tilfredsstillende opløselighed, toksisitet, viskositet og osmolalitet og er yderst velegnet til myelografi, men den er ikke egnet som et generelt røntgenkontrastmiddel på grund af manglende opfyldelse af

to af de seks essentielle parametre, hvilket specielt gør forbindelsen uegnet til intravaskulær visualisering. Forbindelse 11 er ikke tilstrækkeligt stabil til at den kan steriliseres på tilfredsstillende måde ved autoklaving og den præsenteres derfor i frysetørret form til rekonstitution, hvilket er en ulempe, især når produktet skal anvendes på daglig basis til intravaskulær visualisering. Desuden er forbindelse 11 asymmetrisk og kan ikke fremstilles lige så billigt som symmetriske forbindelser. Der anvendes større doser røntgenkontrastmiddel ved intravaskulær visualisering end ved myelografi således at fremstillingsprisen har stor betydning for anvendeligheden til vaskulær anvendelse og dermed generel anvendelse.

Forbindelse nr 12 har lidt for høj viskositet og har især en for høj intravenøs toksisitet. Forbindelserne nr 15 og 33 har som forbindelse nr 9 for høj nefrotoksitet og de er desuden for dyre at fremstille. Således er hverken forbindelse 12, forbindelse 15 eller forbindelse 33 egnede som generelle røntgenkontrastmidler.

Til trods for den strukturelle lighed mellem forbindelse 18 og forbindelse I er forbindelse 18 den mest toksiske af de afprøvede forbindelser. Det fremgår heraf, at forbindelser med en struktur, der ligner strukturen af forbindelserne ifølge opfindelsen, ikke nødvendigvis opfylder de parametre, der er essentielle for anvendelsen som generelle røntgenkontrastmidler. Egenskaberne hos de omhandlede forbindelser kan således betragtes som ganske overraskende.

Sammenligningsforsøg B

Der er foretaget en yderligere sammenligning mellem forbindelserne I og II ifølge opfindelsen og forbindelse nr 11 beskrevet i DK patentskrift nr 130.709. Denne kendte forbindelse, der også betegnes metrizamid er udvalgt til yderligere sammenligning, da det er den eneste af de i sammenligningsforsøg A afprøvede forbindelser, der har en intravenøs toksisitet der tilfredsstiller den minimale grænseværdi for denne parameter. Forsøget demonstrerer ikke blot forbindelsernes relative toksisitet men også hyppigheden og alvoren af de skadelige bivirk-

ninger man kan komme ud for ved anvendelse af forbindelserne i en klinisk dosis.

De vundne resultater fremgår af tabel 2.

Tabel 2

Forbindelse		Metrizamid			I	II		
Toksicitet LD ₅₀ rotter	Intravenøs g I/kg	12,1			13,0	15,0		
	Intracis- sternal mg I/kg	ca 65			>280	>300		
Subarach- noid tole- rance	Motorisk depression	2,2			-	1,2		
	Konvulsiv tendens	1,4			-	0		
Blod-hjerne barriere- prøve	Antal kaniner	B 10	A 10		10	20		
	Δ^{197} Hg middelvær- di (spred- ning)	55 (0-112)	72 (4-172)		28 (11-38)	24 (11-102)		
	Trypan blåt antal rea- gerende dyr	4/10 -	7/10 -		2/10 -	2/20 -		
	Total point	6+/10	16+/10		2+/10	3+/20		
Relativ forøgelse af urinært albumin	Rotter middelvær- di (spred- ning)	26 (0,7-270)			5,1 (1,5-11,6)	4,5 (1,8-30)		
	Hunde middelvær- di (spred- ning)	1700 (50-14000)			49 (1,6-3200)	2,7 (0,1-13)		
Fordelingskoefficient vand/oktanol		50			300	1080		
Erytrocyt-deformation <u>in vitro</u>		2,3			(se Tabel 3)	0,56		
Komplement aktivering koncentration (m mol) der giver 50% aktive- ring		263			-	670		
Histamin- frigivelse	Dosis mg I/ml	150	125	100	-	150	125	100
	% Histamin frigivet	24,5	10,5	1,7	-	10,1	3,6	0,7

Den subarachnoide tolerance bestemtes ved observation af kaniner efter suboccipital injection af 0,5 ml/kg kontrastmiddel i en koncentration på 370 mg I/ml bedømt ved pointberegning (gennemsnit for 5 dyr i hver gruppe). Pointskalaen for den konvulsive tendens går fra 0 = ingen virkning til 5 = mange konvulsioner og dødsfald under konvulsivt anfald. Pointskalaen for den motoriske depression går fra 0 = ingen virkning efter at bedøvelsen er ophørt til 3 = ude af stand til at stå oprejst efter 3 timer.

Svækkelsen af blod-hjerne barrieren bestemtes ved indgift i karotidarterien på kaniner i en koncentration på 280 mg I/ml som beskrevet af K. Golman, Investigative Radiology bind 14, (1979) side 305. For metrizamid udførtes prøve A samtidig med undersøgelsen af forbindelse I og prøve B samtidig med forbindelse II. Svækkelsen af blod-hjerne barrieren er bestemt som den procentuelle stigning af $^{197}\text{Hg/g}$ væv i venstre hemisfære i forhold til den højre ($\Delta^{197}\text{Hg}$). Prøven for penetration af trypanblåt er vurderet som beskrevet af Rapoport i Acta Radiol. 15, 21 (1974). Hvert dyr bedømtes separat efter en skala fra + til +++. Det totale point er det samlede antal + for den pågældende gruppe dyr.

Relationen mellem fordelingskoefficienten vand/oktanol og toksisiteten er vist og beskrevet af H. Levitan og S.I. Rapoport i "Contrast Media - Quantitative Criteria for designing compounds with low toxicity", Acta Radiol. Diagn., bind 17, 81 (1976). Resultaterne i tabel 2 antyder at forbindelse I og II er væsentligt mindre toksiske end metrizamid.

Forøgelsen af albumin i urinen bestemtes ved indgift til hunde og rotter i en koncentration på 370 mg I/ml i overensstemmelse med den metode, der er beskrevet i "Proteinuria following nephroangiography. II. Influence of contract medium and catheterization in dogs". Acta Radiol. Diagn. 19, 33 (1978) og "Proteinuria following nephroangiography. IV. Comparison in dogs between ionic and non-ionic contrast media". Acta Radiol. Diagn. 20, 13 (1979).

Metrizamids og forbindelse II's virkning på erythrocyternes morfologi sammenlignedes ved at blande 6 rumfangsdele

frisk fuldblod med 1 rumfangsdel prøveopløsning og umiddelbar analyse af blandingen under mikroskop. De morfologiske forandringer bedømtes efter en pointskala fra 0 til 6. (høj værdi - stor forandring).

Metrizamids og forbindelse I's virkning på erythrocyter undersøgte i et mikroskopisk flowkammer-rheoskop. Resultaterne fremgår af følgende tabel 3.

Tabel 3

Forbindelse	Osmolalitet	Rumfangsforhold	Grad af erythrocytdeformation
Forbindelse I	0,3	20	(+)
(170 mg I/ml)		90	+
Forbindelse I	0,5	2	(+)
(280 mg I/ml)		5	(+)
		20	+
		90	ddd
Metrizamid	0,3	20	++
(170 mg I/ml)		90	+++
Metrizamid	0,5	2	(+)
(280 mg I/ml)		5	++
		20	++
		90	+++

(+) = mindre deformation, ingen ekinocyter
 + = - - - <10% -
 ++ = 10 - 50% ekinocyter
 +++ = 90 - 100% -
 ddd = 90 - 100% dessiccocyter

Komplement aktivering, dvs den koncentration der giver 50% aktivering bestemtes på en måde svarende til den der er beskrevet i The Journal of Immunology Bind 121, nr 4 oktober 1978.

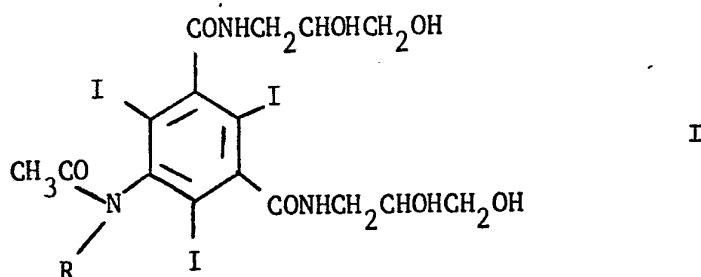
Histaminfrigivelsen bestemtes på en helcellesuspen-

sion fra heparinbehandlet peritonealvæske fra rotter.

Det fremgår af resultaterne i tabel 2 og 3 at forbindelse I og II giver en mindre grad af skadelige bivirkninger sammenlignet med metrizamid. De er således velegnede som generelle røntgenkontrastmidler, idet de ikke blot er egnede til myelografi men også til vaskulær visualisering indbefattet urografi.

P a t e n t k r a v

1. Trijodisoftalsyrederivater til anvendelse som røntgenkontrastmidler, k e n d e t e g n e t ved at de har den almenne formel



hvor R er gruppen $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ eller $-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{OH}$.

2. Trijodisoftalsyrederivat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at det er 5-(N-2-hydroxyætylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid.

3. Trijodisoftalsyrederivat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at det er 5-(N-2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid.

4. Trijodisoftalsyrederivater ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved at det er (+)-5-(N-2-hydroxyætylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid; (-)-5-(N-2-hydroxyætylacetamido)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid; eller racemisk 5-(N-2-hydroxyætylacetamid)-2,4,6-trijod-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-isofthalamid.

5. Radiologiske præparater, k e n d e t e g n e t ved at de som aktiv ingrediens indeholder et trijodisoftalsyrederivat ifølge krav 1 med formel I sammen med en inaktiv bærer.

6. Præparat ifølge krav 5, k e n d e t e g n e t ved at det foreligger i hætteflasker eller ampuller.

7. Præparater ifølge krav 6, k e n d e t e g n e t ved at hver hætteflaske eller ampul indeholder den aktive ingrediens i en koncentration på mellem 20 og 500 mg I/ml.

Fremdragne publikationer:

DK patent nr. 130709.

Langkjær København