

NORGE



**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

Utlegningskrift nr. 122374

Int. Cl. C 07 d 49/36 Kl. 12p-9

Patentsøknad nr. 1657/69 Inngitt 22.IV 1969

Løpedag 9.III 1965

Søknaden alment tilgjengelig fra 1.VII 1968

Søknaden utlagt og utlegningskrift utgitt 21.VI 1971

Prioritet begjært fra: 10.III-64 USA,
nr. 350639

Avdelt fra søknad nr. 157118

Merck & Co., Inc.,
126 East Lincoln Avenue, Rahway, N.J., USA.

Oppfinnere: Lewis Hastings Sarett, 100 Hodge Road, Princeton,
N.J. 08540, Dale Richard Hoff, 2 King Ridge Road,
Bernard's Township, N.J., og Davis Weston Henry,
120 Randolph Road, Plainfield, N.J., USA.

Fullmektig: Siv.ing. Erling Quande.

Fremgangsmåte ved fremstilling av terapeutisk aktive nitroimidazo-isoindoler.

Foreliggende oppfinnelse angår en fremgangsmåte ved fremstilling av nye, terapeutisk aktive nitroimidazo-isoindoler som er virksomme som parasitticider og antiprotozoider.

Histomoniasis er en fjærkresykdom som skyldes den protozoane parasitt *Histomonas meleagridis*. Denne sykdom, kjent som "turkey blackhead" eller enterohepatitis, er et alvorlig økonomisk problem i kalkunoppdrettingsindustrien. Infeksjonen sprer seg hyppig hurtig i kalkunflokkene og en høy dødelighet på grunn av sykdommen er vanlig. Forbindelser som nu er kommersielt tilgjengelig for å behandle "turkey blackhead" hjelper noe, men ingen har vist seg helt tilfredsstillende fordi de tillater utvikling av

122374

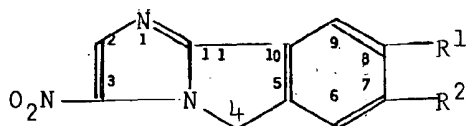
2

resistente arter av den infiserende organisme og fører til uønskede bivirkninger når de fordøyes av fuglene i mengder som er tilstrekkelig til å motvirke sykdommen.

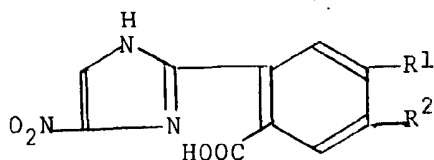
Den protozoane sykdom trichomoniasis som skyldes *Trichomonas vaginalis*, infiserer hovedsakelig den menneskelige vagina og er den etiologiske grunn til en meget brysom og fremherskende form for vaginal infeksjon kjent som *T. vaginalis vaginitis*. Legemidler som hittil har vært tilgjengelig for å behandle denne lidelse har likesom dem som har vært anvendt ved behandling av enterohepatitis, visse begrensninger og ulemper.

Det er et mål ved foreliggende oppfinnelse å fremskaffe en fremgangsmåte ved fremstilling av nye kjemiske forbindelser som har en høy grad av antiprotozoal aktivitet.

Foreliggende oppfinnelse angår således en fremgangsmåte ved fremstilling av terapeutisk aktive forbindelser av den generelle formel:



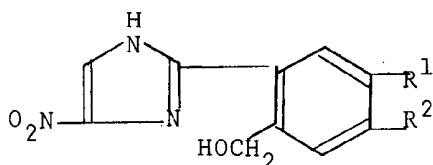
hvor en av substituentene R^1 og R^2 er nitro og den annen hydrogen, eller begge er hydrogen, ved hvilken en forbindelse av den generelle formel:



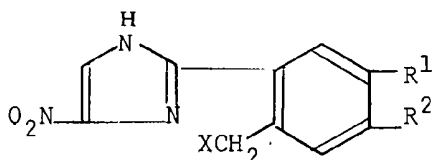
hvor R^1 og R^2 er som ovenfor angitt, behandles med et reduksjonsmiddel for å danne en forbindelse av den generelle formel:

122374

3



hvor R^1 og R^2 er som ovenfor angitt, som behandles med et halogeneringsmiddel for å danne en forbindelse av den generelle formel:



hvor R^1 og R^2 er som ovenfor angitt, og X er halogen, som så ring-sluttes ved oppvarming.

Det første trinn ved fremstilling av utgangsmaterialene for ovennevnte forbindelser innbefatter omsetning med en lavere alkanol og hydrogenklorid. Reaksjonen utføres fortrinnsvis ved ca. 0 - 10° C. Det dannede produkt er et laverealkyl-o-cyanoaryl-imidat-hydroklorid som så behandles med aminoacetal i oppløsningsmiddel, fortrinnsvis en lavere alkanol, såsom methanol. Temperaturen er ikke kritisk, men værelsetemperatur foretrekkes. Det dannede o-cyanoarylamidin overføres så til den tilsvarende 2-(o-carboxyaryl)-imidazol ved behandling med en sterk syre, fortrinnsvis konsentrert med mineralsyre, som svovelsyre. Dette produkt nitreres så på imidazolringen under anvendelse av et nitreringsmiddel, såsom rykende salpetersyre i en mineralsyre, fortrinnsvis svovelsyre.

Reaksjonstemperaturen ved nitreringen kan varieres fra ca. værelsetemperatur til opptil tilbakeløpstemperaturen for syreblandingen (ca. 150 - 160° C). Reaksjonen er vanligvis fullstendig på mindre enn 1 time, og en reaksjonstid på 20 - 30 minutter viser seg ofte å være tilstrekkelig. Temperatur og reaksjonstid er ikke kritiske ved fremstilling av disse forbindelser ved denne fremgangsmåte, og det er bare i alminnelighet ønskelig å oppvarme reaksjonsblandingen for at reaksjonshastigheten bekvemt skal økes.

122374

4

Ved foreliggende fremgangsmåte reduseres så carboxylsyren på substituenten til hydroxymethyl ved anvendelse av et selektivt reduksjonsmiddel, som diboran. Behandling av 2-(2'-hydroxymethyl-aryl)-4-nitroimidazolproduktet med et halogeneringsmiddel, såsom thionylklorid, gir en 2-(2'-halogenmethylaryl)-4-nitroimidazol som så overføres til den ønskede isoindol ved oppvarming ved ca. 100° C til 160° C i ca. 1 til 30 minutter.

Fremgangsmåteforbindelsene er effektive ved bekjempelse av enterohepatitis i kalkuner. Til dette formål kan de gis til kalkunene blandet som en øbestanddel av kalkunens ernæring, f.eks. fôr eller drikkevann. God bekjempelse av sykdommen oppnås når imidazolforbindelsene fremstilt ifølge oppfinnelsen inkorporeres i kalkunfôret i mengder på fra ca. 0,003 % til ca. 0,1 vekt%, og fortrinnsvis fra 0,006 % til 0,05 vekt% av fôret. Den optimale konsentrasjon vil for en stor del avhenge av alderen av fuglene, styrken av infeksjonen og den spesielle forbindelse som anvendes. Ved disse doser oppnåes en god bekjempelse av sykdommen med ingen eller minimale bivirkninger eller vekstnedsettelse av kalkunene.

Når fjærkrefôret eller fjærkrerasjonen anvendes som bærer for de aktive forbindelser fremstilt ved foreliggende oppfinnelse, er det ønskelig at legemidlet blandes jevnt med fôret. Dette kan oppnåes ved først å fremstille en forblending eller fôrtilsetningspreparat hvor den aktive bestanddel er tilstede i konsentrasjoner på fra ca. 1 % til ca. 50 vekt% og hvor bæreren eller fortynningsmidlet er en ugiftig, oralt inntagbar bærer. Det foretrekkes at bæreren er et næringsmiddel, f.eks. maismask, maisavfall fra stivelsesfremstilling, maiskolbemel, spiselige grønnsakmaterialer, kondenserte, oppløselige stoffer fra fisk, bryggerigjær, kjernemelk og myse, lusern, citrusmel, sirupsfaststoffer, soyabønne-øllefôr, antibiotiske myceler, ristet, avskallet soyamel, knuste soyabønner, hvetekli, kliblandet hvetemel, soyabønnemel, drank eller maismel. Preparatene eller forblendingene blir så intimt og jevnt blandet med resten av fjærkrefôret på konvensjonell måte som ved maling.

Når de aktive forbindelser administreres via fjærkreets drikkevann, hvilket foretrekkes når fuglene er alvorlig angrepet (fuglene vil vanligvis fortsette å drikke etter at de har sluttet

å spise fast føde), anvendes noe høyere doser enn ved administrering med fast fôr. Mengdene av aktivt middel som er nyttige, er de hvori fra ca. 0,01 % til ca. 0,1 vekt% i forhold til vannet anvendes. Noen av nitroimidazolene fremstilt ved foreliggende fremgangsmåte er ikke særlig vannoppløselige og når slike forbindelser tilsettes til drikkevann, er det ønskelig at suspenderings- eller emulgeringsmidler også anvendes for å gjøre forbindelsen mere virksom i denne form. En vannoppløselig form av legemidlet kan anvendes på lignende måte.

Som tidligere nevnt har fremgangsmåteforbindelsene også en betraktelig grad av antitrichomonal aktivitet. Således er 3-nitroimidazo-(2,1:a)-isoindol aktiv mot *Trichomonas foetus* i mus i en dose på 20 mg/kg og 3,7(8)-dinitroimidazo-(2,1:a)-isoindol er også aktiv i en dose på 20 mg/kg.

Av forbindelsen kjent fra norsk patent 93.876 er 1-(2-hydroxyethyl)-5-nitroimidazol aktiv mot *Trichomonas foetus* i mus i en dose på 60 mg/kg og 1,(2-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazol er aktiv i en dose på 40 mg/kg. Forbindelsene kjent fra fransk patent 1.216.238 er aktive i en dose på 40 mg/kg.

Fremgangsmåteforbindelsene er således betydelig mere aktive enn lignende kjente forbindelser.

Når fremgangsmåteforbindelsene anvendes ved behandling av trichomoniasis, kan de administreres oralt i enhetsdoseformer, f.eks. som tabletter eller kapsler. Slike enhetsdoseformer inneholdende fra ca. 100 til ca. 500 mg aktiv antitrichomonal bestanddel er helt tilfredsstillende og fremstilles ved kjente metoder fra farmasien. Disse enhetsdoseformer vil således inneholde de vanlige fortynningsmidler, bindemidler, smøremidler og ekstendere som vanligvis anvendes ved fremstilling av slike former.

Alternativt kan legemidlene suspenderes eller oppløses i flytende bærere bestemt for oral administrasjon. Sluttpreparatet kan være i form av en oppløsning, emulsjon, suspensjon, sirup eller lignende og kan være avpasset for den endelige anvendelse ved kjente metoder med konvensjonelle bindemidler, fortynningsmidler, fuktemidler og andre tilsetninger.

122374

6

Eksempel 1

3-nitroimidazo-(2.1:a)-isoindol

Frømostilling av utgangsmateriale

En blanding av 70 g fthalonitril, 100 ml absolutt ethanol og 200 ml kloroform ble mettet med tørt hydrogenklorid under omrøring i et isbad. Blandingen ble holdt i 14 dager ved 0° C og ble derpå filtrert og produktet, ethyl-o-cyanobenzimidat-hydroklorid, ble vasket med kloroform. Morlutene ble fo-tynnet med ether inntil felning fant sted og bunnfallet ble frafiltrert og tilsatt til det første utbytte.

136 g av det rå ethyl-o-cyanobenzimidat-hydroklorid og 95 ml aminoacetaldehyd-diethylacetal ble oppløst i 1 liter methanol og oppløsningen fikk lov til å stå ved værelsetemperatur i 1 time. Oppløsningsmidlet ble fjernet i vakuum og det sirupaktige residuum ble oppvarmet i 1,5 timer på dampbad med 400 ml konsentrert svovelsyre. Blandingen ble avkjølt, fortynnet med 2,5 l vann og ekstrahert med kloroform. Den sure oppløsning ble gjort sterkt basisk ved tilsetning av et 5 %-ig overskudd av 34 %-ig natriumhydroxyd. Oppløsningen ble så ekstrahert med kloroform. Kloroformekstraktene ble kastet og den basiske oppløsning ble innstilt på pH 5 med konsentrert saltsyre og inndampet til tørrhet i vakuum. De gjenværende, brune salter ble oppvarmet ved 210 - 220° C i 3/4 time ved 1 mm trykk i et sublimasjonsapparat. Det erholdte sublimat ble oppløst i 200 ml varm 1,25 N saltsyre. Oppløsningen ble så avkjølt og det uoppløselige bunnfall ble frafiltrert. Filtratet ble inndampet til tørrhet og de dannede salter ble oppløst i 400 ml varm absolutt ethanol. Etter avkjøling ble et bunnfall av ammoniumklorid frafiltrert og filtratet kokt ned til 150 - 200 ml. Etter avkjøling ble ytterligere ammoniumklorid fjernet ved filtrering. Hoveddelen av ethanolen ble avdampet og det sirupaktige residuum ble fortynnet med 200 ml aceton for å bevirke felning av 2-(2'-carboxyfenyl)-imidazol-hydroklorid.

1,00 g av dette produkt ble oppløst i 3,0 mm 30 %-ig rykende svovelsyre og 0,50 ml (10,8 mmol) rykende salpetersyre ble tilsatt i løpet av ca. 1 minutt under overflaten av oppløsningen. Blandingen ble oppvarmet på dampbad i ca. 15 minutter og derpå avkjølt, fortynnet med 30 ml vann og behandlet med 10 ml 11,7 N natriumhydroxydoppløsning under ytterligere avkjøling ved 0° C. Produktet ble frafiltrert og omkrystallisert fra aceton-vann, hvor-

ved man fikk 2-(2'-carboxyfenyl)-4-nitroimidazol.

Fremstilling av sluttprodukt

I en suspensjon av 0,500 g (2,13 mmol) 2-(2'-carboxyfenyl)-4-nitroimidazol i 5,0 ml di(β -methoxyethyl)-ether ble innført en sakte strøm av diboran, inntil alt utgangsmateriale var oppløst. Blandingen fikk lov til å stå ved værelsetemperatur i 1 time og den dannede, nesten faste blanding ble så fortynnet forsiktig med 20 ml vann. Blandingen ble så avkjølt på is og bunnfallet, 2-(2'-hydroxymethylfenyl)-4-nitroimidazol, ble frafiltrert og vasket med vann.

303 mg (1,38 mmol) 2-(2'-hydroxymethylfenyl)-4-nitroimidazol ble behandlet med 1 ml thionylklorid. Overskuddet av thionylklorid ble fjernet i vakuum og residuet ble oppløst i 1 ml methanol. Oppløsningen ble så fortynnet med 5 ml vann og den utfelte olje ble ekstrahert med to porsjoner kloroform. Etter tørking over natriumsulfat og inndamping i vakuum, fikk man et lett krystalliserende, brunt residuum av 2-(2'-klormethylfenyl)-4-nitroimidazol. Dette ble rensset ved filtrering over 4,0 g syrevasket aluminiumoxyd i ethylacetatoppløsningsmiddel.

1,21 g (5,10 mmol) av den ovenfor erholdte nitroimidazol ble oppvarmet i 2 - 3 minutter ved 152° C. Det mørke residuum ble så oppløst i en blanding av kloroform og overskudd av fortynnet natriumhydroxydoppløsning. Kloroformfasen ble forenet med to ytterligere kloroformekstrakter og inndampet til tørrhet. Det brune residuum ble kromatografert over 6,0 g syrevasket aluminiumoxyd under anvendelse av 1:1 volumforhold av metylenklorid og ether som elueringsmiddel. Det blekt gule bånd som ble eluert etter en kort tid, ble oppsamlet i en fraksjon og oppløsningsmidlet ble avdampet til tørrhet. Omkrystallisasjon fra metylenklorid ga 3-nitroimidazo-(2.1:a)-isoindol med smeltepunkt 212 - 214° C.

Eksempel 2

3,7(8)-dinitroimidazo-(2.1:a)-isoindol

Fremstilling av utgangsmateriale

Til en oppløsning av 15,3 g (0,0657 mol) 2-(2'-carboxyfenyl)-4-nitroimidazol i 74 ml 30 %-ig rykende svovelsyre ble tilsatt 7,5 ml rykende salpetersyre under omrøring. Etter oppvarming ved 100° C i 2,25 timer ble blandingen avkjølt og helt langsomt

122374

8

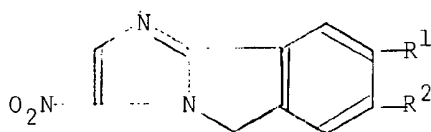
under omrøring i 600 ml vann. Blandingen ble avkjølt i is og det krystallinske bunnfall som ble dannet, ble frafiltrert og vasket med vann, hvorved man fikk 2-(2'-carboxy-4(5)-nitrofenyl)-4-nitroimidazol.

Fremstilling av sluttprodukt

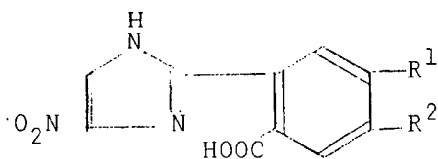
Forbindelsen, 2-(2'-carboxy-4(5)-nitrofenyl)-4-nitroimidazol, ble så behandlet på lignende måte som ved fremstilling av 3-nitroimidazol-(2.1:a)-isoindol fra 2-(2'-carboxyfenyl)-4-nitroimidazol (eksempel 1). Det erholdte produkt, 3,7(8)-dinitroimidazo-(2.1:a)-isoindol, smeltet under spaltning ved 200 - 240° C.

P a t e n t k r a v

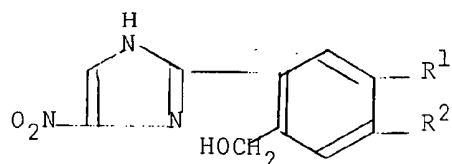
Fremgangsmåte ved fremstilling av terapeutisk aktive forbindelser av den generelle formel:



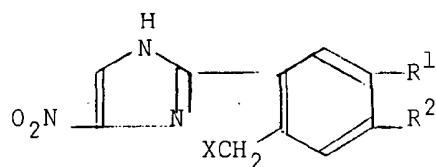
hvor en av substituentene R^1 og R^2 er nitro og den annen hydrogen, eller begge er hydrogen, karakterisert ved at en forbindelse av den generelle formel:



hvor R^1 og R^2 er som ovenfor angitt, behandles med et reduksjonsmiddel for å danne en forbindelse av den generelle formel:



hvor R^1 og R^2 er som ovenfor angitt, som behandles med et halogeneringsmiddel for å danne en forbindelse av den generelle formel:



hvor R^1 og R^2 er som ovenfor angitt, og X er halogen, som så ring-sluttes ved oppvarming.

Anførte publikasjoner:
 Norsk patent nr. 93.876
 Fransk patent nr. 1.216.238