(19) DANMARK

(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **147826 B**

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET

(21) Patentansøgning nr.: **0075/78**

(51) Int.Cl.³: **C 07 D 495/04**

(22) Indleveringsdag: **06 jan 1978**

(41) Alm. tilgængelig: **08 jul 1978**

(44) Fremlagt: **17 dec 1984**

(86) International ansøgning nr.: --

(30) Prioritet: **07 jan 1977 FR 7700408**

(71) Ansøger: ***PARCOR; 75008 Paris, FR.**

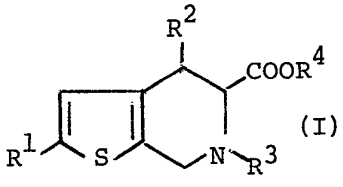
(72) Opfinder: **Jean-Pierre *Maffrand; FR.**

(74) Fuldmægtig: **Firmaet Chas. Hude**

(54) **Fremgangsmåde til fremstilling af 4,5,6,7-tetrahydro-thieno(2,3-c)- eller -(3,2-c)pyridiner**

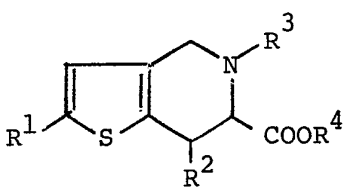
DK 147826 B

Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af terapeutisk anvendelige hidtil ukendte 4,5,6,7-tetrahydrothieno-[2,3-c] - eller -[3,2-c] pyridiner med en af følgende formler:



(I)

eller



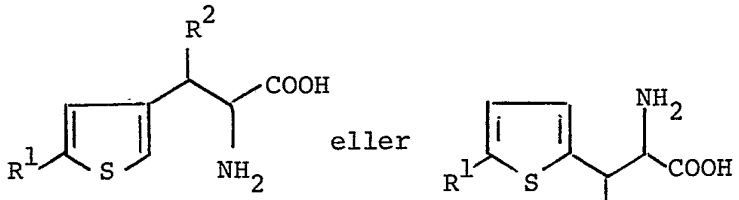
(II)

hvori R^1 betegner hydrogen eller halogen, typisk chlor, R^2 betegner hydrogen eller en hydroxygruppe, og R^3 og R^4, som kan være ens eller forskellige, hver betegner hydrogen eller en alkylgruppe indeholdende 1-6 carbonatomer eller en phenylalkylgruppe med 1-6 carbonatomer i alkyldelen, hvori phenylkernen eventuelt er substitueret med 1-3 halogenatomer eller C_{1-6}-alkylgrupper, C_{1-6}-alkoxygrupper, hydroxy-, nitro-, cyano- eller trifluormethylgrupper, hvorhos de derivater, hvori R^2 er en hydroxygruppe, har cis-konfiguration, eller syreadditionssalte deraf.

De nævnte forbindelser med formlerne (I) og (II) er anvendelige som lægemidler med antiaggregationsvirkning overfor røde blodlegemer, antithrombosevirkning og blodpladeantiaggregationsvirkning, og som mellemprodukter til fremstilling af andre nyttige thienopyridiner, især som beskrevet i beskrivelserne til de danske patentansøgninger nr. 2669/78 og nr. 502/79.

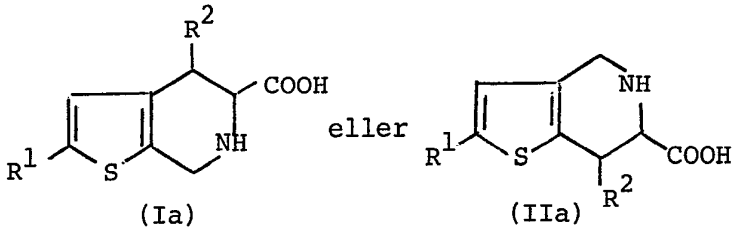
Forbindelserne fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen er nærmere betegnet velegnede at administrere til præventiv eller helbredende behandling af sygdomme, der forårsager en patologisk ændring af blodpladeaggregationen, såsom thromboemboliske lidelser.

Opfindelsen angår således en fremgangsmåde til fremstilling af forbindelserne med formlerne (I) eller (II), der er ejendommelige ved, at man kondenserer en forbindelse med formlen:



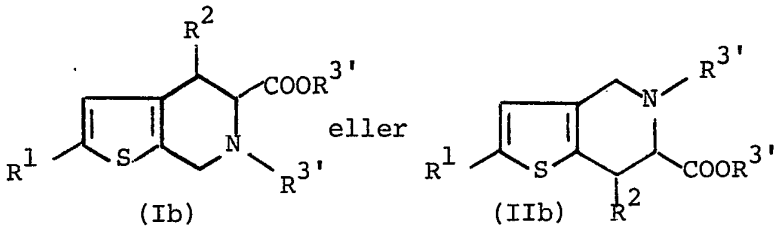
(III) (IV)

hvori R^1 og R^2 har de ovenfor anførte betydninger, med formaldehyd i vandig opløsning i nærværelse af en stærk uorganisk syre, hvorved der opnås et derivat med formlen:



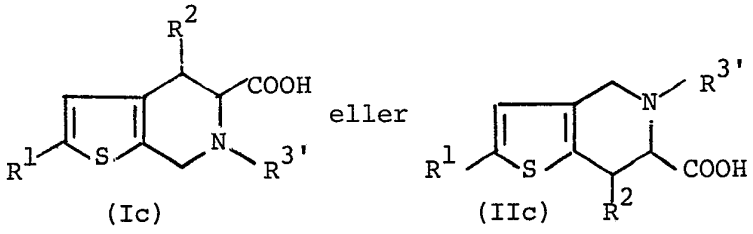
(Ia) (IIa)

hvori R^1 og R^2 har de ovenfor anførte betydninger, hvorpå man om ønsket omsætter derivatet med formlen (Ia) eller (IIa) med et halogenid med formlen $R^{3'}X$, hvori $R^{3'}$ har samme betydning som R^3 med undtagelse af hydrogen, og X er halogen, til opnåelse af et derivat med formlen



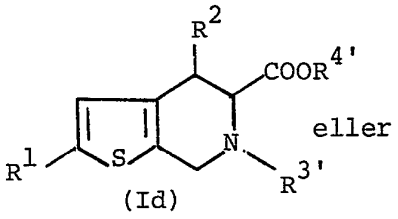
(Ib) (IIb)

hvori R^1, R^2 og $R^{3'}$ har den ovenfor anførte betydning, hvorefter man om ønsket underkaster derivatet (Ib) eller (IIb) en hydrolyse til opnåelse af et derivat med formlen:



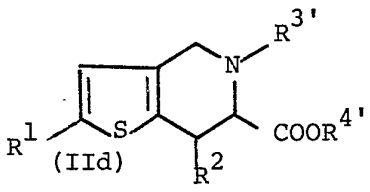
(Ic) (IIc)

hvori R^1, R^2 og $R^{3'}$ har den ovenfor anførte betydning, hvorpå man om ønsket esterificerer derivatet med formlen (Ic) eller (IIc) med en alkohol med formlen $R^{4'}OH$, hvori $R^{4'}$ har samme betydning som R^4 med undtagelse af hydrogen, til opnåelse af et derivat med formlen:



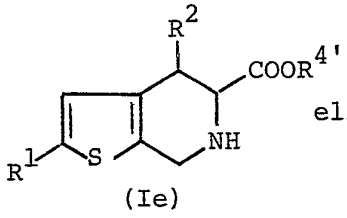
(Id)

eller



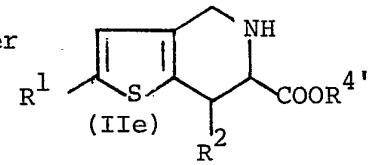
(IId)

hvori R^1, R^2, $R^{3'}$ og $R^{4'}$ har den ovenfor anførte betydning, eller hvorpå man om ønsket esterificerer derivatet med formlen (Ia) eller (IIa) med en alkohol $R^{4'}OH$, hvori $R^{4'}$ har den ovenfor anførte betydning, til opnåelse af et derivat med formlen:



(Ie)

eller



(IIe)

hvori R^1, R^2 og $R^{4'}$ har den ovenfor anførte betydning, hvorpå derivatet med formlen (Ie) eller (IIe) eventuelt omsættes med et halogenid med formlen $R^{3'}X$, hvori $R^{3'}$ har den ovenfor anførte betydning, til opnåelse af derivatet med formlen (Id) eller (IId), og at man om ønsket på i og for sig kendt måde omsætter et derivat med formlen (I) eller (II) med en uorganisk eller organisk syre til opnåelse af et syreadditionssalt deraf.

Kondensationen,ved hvilken den uorganiske syre typisk er saltsyre eller svovlsyre, finder generelt sted ved stuetemperatur, men det kan dog i nogle tilfælde være nødvendigt at opvarme reaktionsblandingen til en temperatur på eksempelvis 50°C.

Derivaterne (Ia) og (IIa) kan omsættes med halogenidet $R^{3'}X$, fortrinsvis i et ringe overskud, idet X fortrinsvis er chlor, brom eller jod. Reaktionen udføres fordelagtigt i et indifferent opløsningsmiddel, såsom en lavere alkohol, f.eks. ethanol, eller dimethylformamid, i nærværelse af et syrebindende middel, såsom et alkalimetalcarbonat, f.eks. kaliumcarbonat, hvorhos reaktionstemperaturen generelt ligger mellem 60°C og kogepunktet for det benyttede opløsningsmiddel.

Når X er chlor eller brom, kan en katalytisk eller støkiometrisk mængde af et alkalimetaljodid, såsom kaliumjodid, fordelagtigt tilsættes.

De resulterende forbindelser (Ib) og (IIb) kan underkastes en basisk hydrolyse ved opvarmning under tilbagesvaling i et alkoholopløsningsmiddel, såsom methanol eller ethanol, i nærværelse af et alkalimetalhydroxid, såsom natriumhydroxid, til opnåelse af derivaterne (Ic) og (IIc).

Sidstnævnte kan på sin side esterificeres ved opvarmning under tilbagesvaling i en alkohol med formlen $R^{4'}OH$ i nærværelse af gasformigt hydrogenchlorid til opnåelse af derivaterne (Id) og (IId).

Ifølge fremgangsmåden kan forbindelserne (Ia) og (IIa) også esterificeres ved opvarmning under tilbagesvaling i en alkohol med formlen $R^{4'}OH$ i nærværelse af gasformigt hydrogenchlorid til opnåelse af derivaterne (Ie) og (IIe), der på sin side kan omdannes til forbindelserne (Id) og (IId) ved kondensation med et halogenid med formlen $R^{3'}X$ under de ovennævnte betingelser.

Alaninerne med formlen (III) eller (IV) (R^1 = H eller Hal; R^2 = H) og serinerne med formlen (III) eller (IV) (R^1 = H eller Hal; R^2 = OH), der kræves til fremgangsmåden ifølge opfindelsen, kan opnås på følgende måde:

β-(2-thienyl)alanin er et i handelen gående produkt, som kan fremstilles ifølge K. Dittmer, W. Herz og J.S. Chambers, J. Biol. Chem., 1946, 166,541.

β-(2-thienyl)serin kan fremstilles ifølge G. Weitnauer, Gazz. Chim. Ital., 1951, 81, 162.

β-(5-chlor-2-thienyl)alanin kan fremstilles ifølge F. Growe og F. F. Nord, J. Org. Chem., 1950, 15, 688.

β-(5-chlor-2-thienyl)serin kan fremstilles ud fra 5-chlor-2-thienaldehyd ved anvendelse af ovennævnte fremgangsmåde ifølge G. Weitnauer: Hvide krystaller med smeltepunkt (dekomponering) på 200-205°C i et udbytte på 83%.

β-(3-thienyl)alanin kan fremstilles ifølge J. Shapira, R. Shapira og K. Dittmer, J. Am. Chem. Soc., 1953, 75, 3655.

β-(3-thienyl)serin kan fremstilles ud fra 3-thienaldehyd ved anvendelse af ovennævnte fremgangsmåde ifølge G. Weitnauer. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 241°C.

De øvrige derivater med formlen (III) og (IV) kan fremstilles ifølge en af ovennævnte fremgangsmåder.

Alle de benyttede seriner havde threo-konfiguration, og følgelig havde de deraf afledte thienopyridiner med formlen (I) og (II), hvori R^2 = OH, cis-konfiguration.

De efterfølgende eksempler illustrerer fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

Eksempel 1

6-carboxy-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin

(Formel II ; R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = R^4 = H).

En opløsning af 205 g (1 mol) β-(2-thienyl)serin i 1200 ml af en 35% vandig formalinopløsning og 1100 ml 0,5N svovlsyre omrøres ved stuetemperatur i 72 timer under en nitrogenatmosfære. Det resulterende lyst beige farvede præcipitat vaskes moderat med vand og tørres i vakuum. Smeltepunkt > 260°C (102,5 g). Den mængde vandig natrium-hydroxidopløsning, der kræves til neutralisering af nøjagtigt alt den ved reaktionen benyttede svovlsyre, sættes til filtratet. Det resulterende nye præcipitat filtreres fra, vaskes med en ringe mængde vand og derpå med ethanol og med ether til efter tørring i vakuum at resultere i et andet udbytte (43,5 g) af det ønskede produkt. Samlet udbytte: 73%.

Eksempel 2

6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin.

(Formel II : R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H).

Opnås ved fremgangsmåden ifølge eksempel 1 ud fra β-(2-thienyl)alanin. Hvide krystaller med smeltepnkt >260°C (H_2O) i et udbytte på 76%.

Eksempel 3

6-carboxy-2-chlor-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]-pyridin (formel II ; R^1 = Cl, R^2 = OH, R^3 = R^4 = H).

Opnås ved fremgangsmåden ifølge eksempel 1 ud fra β-(5-chlor-2-thienyl)-serin. Hvide krystaller med smeltepunkt >260°C i et udbytte på 43%.

Eksempel 4

6-carboxy-2-chlor-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = Cl, R^2 = R^3 = R^4 = H).

Opnås ved fremgangsmåden ifølge eksempel 1 ud fra β-(5-chlor-2-thie=nyl)alanin. Hvide krystaller med smeltepunkt >260°C i et udbytte på 75%.

Eksempel 5

5-carboxy-4-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]pyridin (formel I ; R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = R^4 = H).

Opnås ved fremgangsmåden ifølge eksempel 1 ud fra β-(3-thienyl)serin. Hvide krystaller med smeltepunkt >260°C i et udbytte på 75%.

Eksempel 6

5-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]pyridin (formel I ; R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H).

Opnås ved fremgangsmåden ifølge eksempel 1 ud fra β-(3-thienyl)alanin. Hydrochloridet: Hvide krystaller med smeltepunkt >260°C i et udbytte på 87%.

Eksempel 7

5-benzyl-6-benzyloxycarbonyl-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = R^4 = benzyl).

En blanding af 20,5 g (0,103 mol) 6-carboxy-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin fra eksempel 1, 28,4 g (0,206 mol) kaliumcarbonat samt 200 mg kaliumjodid i 150 ml dimethylformamid opvarmes til 80°C i 30 minutter. Benzylchlorid (26,07 g, 0,206 mol) tilsættes derpå, og reaktionsblandingen omrøres ved 100°C i 4 timer. Efter køling filtreres de uorganiske salte fra, filtratet inddampes til tørhed, og resten opløses i ether. Den organiske fase vaskes med vand, tørres over natriumsulfat og inddampes til tørhed. Den resulterende olie omdannes til hydrochloridet, der rekrystalliseres to gange fra ethanol. Hvide krystaller med smeltepunkt 175-185°C i et udbytte på 52%.

Eksempel 8

5-o-chlorbenzyl-6-o-chlorbenzyloxycarbonyl-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = R^4 = o-chlorbenzyl).

Forbindelsen opnås ved en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 7 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 160-180°C (isopropanol). Udbytte = 48,5%.

Eksempel 9

5-o-methylbenzyl-6-o-methylbenzyloxycarbonyl-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1=H, R^2 = OH, R^3 = R^4 = o-methylbenzyl).

Forbindelsen opnås ved en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 7 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 180-190°C(isopropanol-ethanol). Udbytte = 48%.

Eksempel 10

4-hydroxy-5-o-fluorbenzyloxycarbonyl-6-o-fluorbenzyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]pyridin (formel I ; R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = R^4 = o-fluorbenzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med fremgangsmåden ifølge eksempel 7, ud fra 4-hydroxy-5-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]pyridin (eksempel 5) og o-fluorbenzylchlorid. Hydrochloridet er lysegule krystaller med smeltepunkt 175°C (ethanol). Udbytte = 57%.

Eksempel 11

4-hydroxy-5-benzyloxycarbonyl-6-benzyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]pyridin (formel I ; R^1 = H, R^2 = OH, R^3 = R^4 = benzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 10 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 160-165°C (ethanol-diisopropylether). Udbytte = 47%.

Eksempel 12

5-benzyl-6-benzyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = R^2 = H, R^3 = R^4 = benzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 7 anførte, ud fra 6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (eksempel 2) og benzylchlorid . Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 135-140°C (isopropanol). Udbytte = 65%.

Eksempel 13

5-o-chlorbenzyl-6-o-chlorbenzyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno-[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = R^2 = H, R^3 = R^4 = o-chlorbenzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 12 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 120-130°C (ethanol-isopropanol). Udbytte = 20%.

Eksempel 14

5-p-methoxybenzyl-6-p-methoxybenzyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II , R^1 = R^2 = H, R^3 = R^4 = p-methoxybenzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 12 anførte. Base: Hvide krystaller med smeltepunkt 72°C (isopropanol) i et udbytte på 31%.

Eksempel 15

5-p-nitrobenzyl-6-p-nitrobenzyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno-[3,2-c]pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = R^4$ = p-nitrobenzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 12 anførte. Base: Beige krystaller med smeltepunkt 122°C (acetonitril) i et udbytte på 51,5%.

Eksempel 16

5-o-cyanobenzyl-6-o-cyanobenzyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno-[3,2-c]pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = R^4$ = o-cyanobenzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 12 anførte. Base: Hvide krystaller med smeltepunkt 107°C (isopropanol-acetonitril) i et udbytte på 44%.

Eksempel 17

5-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-6-(3,4,5-trimethoxy-benzyl-oxycarbonyl)-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = R^4$ = 3,4,5-trimethoxybenzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 12 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 150-170°C (ethanol). Udbytte = 12%.

Eksempel 18

5-butyl-6-butoxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = R^4$ = butyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 12 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 141°C (isopropanol-diisopropylether). Udbytte = 46%.

Eksempel 19

5-phenethyl-6-phenethyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]-pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = R^4$ = phenethyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 12 anførte. Oxalatet er hvide krystaller med smeltepunkt 160°C (ethanol). Udbytte = 17%.

Eksempel 20

5-benzyloxycarbonyl-6-benzyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]pyridin (formel I ; $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = R^4$ = benzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 7 anførte, ud fra 5-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]-pyridin (eksempel 6) og benzylchlorid. Hydrochloridet er lysegule krystaller med smeltepunkt 135-140°C (isopropanol). Udbytte = 53%.

Eksempel 21

2-chlor-5-benzyl-6-benzyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]-pyridin (formel II ; R^1 = Cl, $R^2 = H$, $R^3 = R^4$ = benzyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 7 anførte, ud fra 2-chlor-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno-[3,2-c]-pyridin (eksempel 4) og benzylchlorid. Hydrochloridet er beige krystaller med smeltepunkt 140-160°C. Udbytte = 56%.

Eksempel 22

5-benzyl-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, R^3 = benzyl, $R^4 = H$).

En opløsning af 8 g (0,02 mol) 5-benzyl-6-benzyloxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridinhydrochlorid (eksempel 12) og 7 ml vandig natriumhydroxid (d = 1,38) i 70 ml ethanol opvarmes under tilbagesvaling i 2 timer. Det resulterende præcipitat opløses ved tilsætning af iseddike. Efter inddampning til tørhed optages resten i methylenchlorid og vand. Den organiske fase vaskes med vand, tørres

over natriumsulfat og inddampes til tørhed. Resten rekrystalliseres 2 gange fra dimethylformamid. Der opnås hvide krystaller med smeltepunkt 230°C i et udbytte på 69,5%.

Eksempel 23

5-o-chlorbenzyl-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, R^3 = o-chlorbenzyl, $R^4 = H$).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 22 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 175-180°C (ethanol). Udbytte = 55,5%.

Eksempel 24

5-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]-pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, R^3 = 3,4,5-trimethoxybenzyl, $R^4 = H$).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 22 anførte. Base: Beige krystaller med smeltepunkt 199°C (iso=propanol-diisopropylether) i et udbytte på 57%.

Eksempel 25

5-methyl-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; $R^1 = R^2 = H$, R^3 = methyl, $R^4 = H$).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 22 anførte. Hydrochloridet er hvide krystaller med smeltepunkt 180-200°C. Udbytte = 79%.

Eksempel 26

5-benzyl-6-carboxy-2-chlor-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = Cl, $R^2 = H$, R^3 = benzyl, $R^4 = H$).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 22 anførte. Base: Beige krystaller med smeltepunkt 205°C i et udbytte på 45%.

Eksempel 27

2-chlor-5-benzyl- 6-ethoxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]py= ridin (formel II ; R^1 = Cl, R^2 = H, R^3 = benzyl, R^4 = ethyl).

En svag hydrogenchloridstrøm bobles gennem en opløsning af 450 mg (1,46 mol) 2-chlor-5-benzyl-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (eksempel 26) i 5 ml absolut ethanol, som opvarmes under tilbagesvaling. Efter opvarmning i 90 minutter opløses det resulterende præcipitat ved tilsætning af vand, gøres basisk med ammoniak og ekstraheres med ether. Etherekstrakterne vaskes med vand, tørres over natriumsulfat og inddampes til tørhed. Den resulterende olie omdannes til hydrochloridet, der rekrystalliseres fra isopropanol. Beige krystaller med smeltepunkt 130-140°C i et udbytte på 46%.

Eksempel 28

5-methyl-6-ethoxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = H, R^2 = H, R^3 = methyl, R^4 = ethyl).

Forbindelsen opnås ifølge en fremgangsmåde, der er analog med den i eksempel 27 anførte, ud fra 5-methyl-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c)pyridin (eksempel 25). Base: Lysegul olie med kogepunkt 105°C ved 1 mm Hg i et udbytte på 15%.

Eksempel 29

2-chlor-6-methoxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = Cl, R^2 = H, R^3 = H, R^4 = methyl).

En svag hydrogenchloridstrøm bobles gennem en suspension af 4,5 g 2-chlor-6-carboxy-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridin i 50 ml methanol, der opvarmes under tilbagesvaling. Efter opvarmning i en time filtreres en ringe mængde uopløseligt materiale fra, og filtratet inddampes til tørhed. Efter rekrystallisation fra isopro= panol resulterer resten i off-white krystaller med smeltepunkt (pasta-agtig) 190-200°C. Udbytte = 52%.

Eksempel 30

2-chlor-5-o-chlorbenzyl-6-methoxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno-[3,2-c]pyridin (formel II ; R^1 = Cl, R^2 = H, R^3 = o-chlorbenzyl, R^4 = methyl).

En blanding af 2,1 g (7,86 mmol) 2-chlor-6-methoxycarbonyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridinhydrochlorid (eksempel 29), 1,27 g (7,86 mmol) o-chlorbenzylchlorid og 1,1 g(7,86 mmol) kaliumcarbonat i 20 ml dimethylformamid opvarmes til 100°C i 21 timer. Efter køling frafiltreres de uorganiske salte, og efter vask med methanol inddampes filtratet til tørhed, og resten opløses i ether. Den organiske fase vaskes med vand, tørres over natriumsulfat og inddampes til tørhed. Den tilbageværende olie omdannes til hydrochloridet, som ved rekrystallisation fra isopropanol-diisopropylether resulterer i hvide krystaller med smeltepunkt 125-130°C i et udbytte på 30%.

Resultaterne af farmakologiske og toksikologiske forsøg, der omtales i det følgende, viser egenskaberne af derivaterne med formlen (I) og (II), især deres lave toksicitet og fortrinlige tolerans, samt deres inhiberende virkning på blodpladeaggregation, deres antiaggregationsvirkning på røde blodlegemer og deres antithrombosevirkning.

I. TOKSIKOLOGISK UNDERSØGELSE.

Forbindelserne med formlerne (I) og (II) udmærker sig ved en fortrinlig tolerans og en lav toksicitet. LD_{50}/24h/kg legemsvægt, bestemt oralt hos mus ved hjælp af fremgangsmåden ifølge Miller og Tainter, er således højere end 350 mg for alle derivater.

Ifølge den samme metode og ad den intravenøse vej er LD_{50}/24h/kg legemsvægt f.eks. 118 mg for derivatet ifølge eksempel 1, 235 mg for derivatet ifølge eksempel 2, 180 mg for derivatet ifølge eksempel 23 og 325 mg for derivatet ifølge eksempel 25.

De akutte, kroniske, sub-kroniske og forsinkede toksicitetsforsøg udført med forskellige dyrearter viste endvidere ikke tegn på nogen lokal eller systemisk reaktion, nogen ændring ved de regelmæssigt udførte biologiske kontrolforsøg, nogen anomali ved de mikroskopiske

og makroskopiske undersøgelser, som blev foretaget med de dyr, som blev dræbt og obduceret efter afslutning af forsøgene.

II. FARMAKOLOGISK UNDERSØGELSE.

1. Inhiberende virkning på blodpladeaggregation.

En blodprøve udtages fra halsvenen hos Wistar-rotter. Efter citratbehandling af dette blod og efter centrifugering udvindes en plasma der indeholder 600.000 $\pm$ 20.000 blodplader pr. ml, hvilken plasma derpå anvendes til alle aggregationsbestemmelser.

a) Bestemmelse af A.D.P.-fremkaldt blodpladeaggregation.

0,4 ml plasma anbringes i et siliceret rør, der rummer en ligeledes siliceret magnetstang. Røret indføres i et aggregometer, som er tilsluttet et apparat, der registrerer optiske massefyldevariationer. Når lystransmissionen har nået en stabil værdi, sættes 0,5 ml af en opløsning indeholdende 10 µM A.D.P. (adenosindiphosphat) til røret.

Blodpladeaggregationen fremkalder en forøgelse af lystransmissionen efterfulgt af en formindskelse efter deaggregationsfasen.

Den således bestemte maksimale optiske massefyldevariation karakteriserer omfanget af aggregationen.

b) Bestemmelse af collageninduceret blodpladeaggregation.

A.D.P.-opløsningen udskiftes med en collagenopløsning (oksesene-ekstrakt).

c) Resultater.

Forskellige grupper på 20 rotter hver benyttes, idet hver gruppe oralt indgives 100 mg/kg af en forsøgsforbindelse. De mest signifikante af de ved ovennævnte forsøg opnåede resultater fremgår af den efterfølgende tabel I, som viser den procentiske inhibering, som opnås i forhold til referencegruppen vedrørende blodpladeaggregation 3 timer efter nævnte behandling.

TABEL I

Behandling	Procent inhibering	
Derivat ifølge eksempel nr.	A.D.P.	Collagen
1	63,8	95,8
4	63,1	91,3
5	62,3	90,5
8	61,8	90,4
10	62,2	92,1
11	60,5	91,6
12	61,6	90,8
13	64,4	96,1
17	61,2	92,0
20	60,4	91,5
23	63,9	95,2
25	61,6	92,4
28	60,8	90,2
29	62,7	92,7
30	62,4	93,0

2. Antiaggregationsvirkning på røde blodlegemer.

Den nævnte virkning blev undersøgt in vitro og in vivo hos rotter.

1. In vitro undersøgelse.

Tre gange vaskede rotteblodlegemer fortyndes til 1/250 i fysiologisk saltvand. I hvert af 5 rør anbringes 0,6 ml af denne suspension samt 0,2 ml fysiologisk saltvand. Til hvert rør sættes derpå henholdsvis 0, 25, 50, 100 og 200 µg af forsøgsderivatet indeholdt i 0,2 ml fysiologisk saltvand. Efter inkubering i en time ved 37°C tilsættes 0,2 ml fysiologisk saltvand indeholdende 125 µg/ml protaminsulfat, hvorefter røret atter inkuberes i 1/2 time ved 37°C. Blodlegemerne i hvert rør undersøges derpå med en Mallases celle, og procenten af frie blodlegemer og procenten af aggregater dannet af 2, 3, 4, 5 etc.. blodlegemer registreres derpå. Resultaterne af denne "præventive" behandling er anført i tabel II.

Dette forsøg viser antiaggregationsvirkning på røde blodlegemer af derivaterne med formlerne (I) og (II).

Forsøget blev gentaget i overensstemmelse med en "helbredende" procedure. De røde blodlegemer blev først kontakteret med protaminsulfat, og efter inkubering i 1/2 time blev 0,2 ml fysiologisk saltvand indeholdende 25 µg forsøgsderivat sat dertil, hvilken foranstaltning efterfølges af en yderligere inkubering i en time ved 37°C. De opnåede resultater er anført i tabel III, hvori agglomeratprocenten er anført som funktion af størrelsen.

Man kan således konkludere, at forskellen mellem de fundne værdier for de frie blodlegemer ved referenceforsøget og ved forsøget udført med derivaterne fremstillet ifølge opfindelsen er meget signifikant.

TABEL II

Agglomerat-størrelse	Kontrol	Derivat ifølge eks.1				Derivat ifølge eks.13				Derivat ifølge eks.23				Derivat ifølge eks.27			
		25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg
1 (frie R.B. *)	33	64	69	86	65	65	68	87	90	60	65	78	83	62	66	75	84
2	22	25	24	7	9	26	23	8	9	21	25	14	11	16	20	15	9
3	13	11	5	4	2	9	5	3	1	16	6	5	4	17	10	7	5
4	6	0	2	3	0	0	4	2	0	3	4	1	2	5	4	3	2
5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* (R.B.) = røde blodlegemer.

147826

TABEL III

Agglomerat-størrelse	Kontrol	Derivat ifølge eksempel: 1	5	13	15	23	26	27	29
1 (frie blodlegemer)	36	84	86	86	87	85	86	87	87
2	22	12	11	9	11	10	12	10	9
3	9	3	3	5	2	4	2	3	2
4	6	1	0	0	0	1	0	0	1
5	7	0	0	0	0	0	0	0	0
6	9	0	0	0	0	0	0	0	0
7	6	0	0	0	0	0	0	0	0
8	3	0	0	0	0	0	0	0	0
9	1	0	0	0	0	0	0	0	0
10	1	0	0	0	0	0	0	0	0

Bemærkning: Der blev anvendt 25 µg af hver forbindelse.

2. In vivo undersøgelse.

200-300 g Wistar rotter bedøves med pentobarbital (2,5 mg/kg i.p.). Efter central laparotomi føres en slynge af tarmen ud (sammen med dens mesenterium) og placeres i en Ringer's opløsning ved 37°C, som er indeholdt i en åben Petri skål på et omvendt mikroskop (25 x 10). Cirkulationen viser sig at være normal ved undersøgelse af de mesenteriske arterier. Ved administration af 25 mg/kg protaminsulfat ved direkte indsprøjtning i halsåren finder en aggregation af røde blodlegemer sted med staser i flere arterioler.

0,2 ml fysiologisk saltvand indeholdende enten 1 mg/ml eller 0,1 mg/ml forsøgsderivat indsprøjtes derpå i halsåren. Kontroldyrene indgives kun 0,2 ml fysiologisk saltvand.

Følgende gennemsnitsresultater blev iagttaget hos 10 dyr:

Ved indsprøjtning af 1 mg/ml forsøgsderivat iagttages:

- En forsvinden i løbet af 4-8 minutter af den punktformede aggregation af røde blodlegemer sammen med gendannelse af en normal cirkulation af den parietale plasmastrøm og af den aksiale strøm af blodlegemer,

- billederne af den punktformede aggregation af røde blodlegemer bevares i kontroldyrene.

Ved indsprøjtning af 0,1 mg/ml forsøgsderivat iagttages:

- Punktformbillederne forsvinder i løbet af samme tidsrum, men normal cirkulation reetableres mindre hurtigt.

- Aggregationen af røde blodlegemer bevares i kontroldyrene.

Det fremgår således, at derivaterne (I) og (II) har en høj antiaggregationsvirkning på røde blodlegemer, uanset om forsøgene udføres in vitro eller en vivo.

3. Antithromboseegenskaber.

Den benyttede teknik er baseret på den af Friedman omtalte (Amer. J. Med. Sci., 253, 83, 1967). Efter etherbedøvelse og medianlaparotomi af Wistar hunrotter med 200-300 g blotlægges den nedre hulvene. En 1,8 cm lang, skarp metalspiral føres ind i karrets indre tværsnit i niveau med nyreforgreningen og "skrues" hen mod bækkenbensårerne. Fem timer senere bedøves dyret atter med ether. Den nedre hulvene underbindes på opstrømssiden og på nedstrømssiden af spiralen tilligemed de kollaterale årer, der befinder sig mellem de to underbindinger. Spiralen udtages sammen med den blodprop, den indeholder, hvorefter hulvenen forsigtigt åbnes i hele den pågældende længde. Spiralen tørres derpå ved hjælp af gentagen dubning med filterpapir og vejes en første gang. Umiddelbart derefter befries spiralen for sin blodprop i et fysiologisk saltvandsbad, og den tørres derpå atter og vejes. Vægtforskellen angiver blodproppens vægt. Det viste sig ved histologisk undersøgelse, at der var tale om hvide blodpropper.

Forskellige grupper på ti rotter behandles hver ved hjælp af maveintubation med et af forsøgsderivaterne 48 timer, 24 timer og 2 timer før implanteringen af metalspiralen. Prøver blev udtaget 5 timer efter nævnte implantering.

Identiske forsøg blev udført med dipyridamol og acetylsalicylsyre.

Resultaterne er opført i tabel IV. Det fremgår af de resulterende data, at dipyridamol ikke har nogen virkning, at acetylsalicylsyre har ringe virkning, hvorimod derivaterne (I) og (II) har en væsentlig antithrombosevirkning.

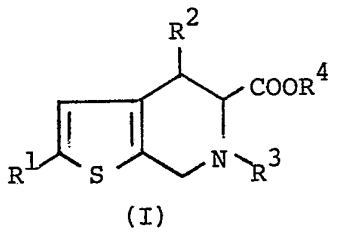
TABEL IV

Administreret forbindelse	Dosis	Legemsvægt	Vægt af blodprop
Reference	-	248 g	3,75 mg ± 0,20
Derivat ifølge eksempel 1	200 mg/kg	237 g	1,95 mg ± 0,13
Derivat ifølge eksempel 6	200 mg/kg	245 g	1,85 mg ± 0,12
Derivat ifølge eksempel 15	200 mg/kg	243 g	1,89 mg ± 0,14
Derivat ifølge eksempel 22	200 mg/kg	250 g	1,82 mg ± 0,12
Derivat ifølge eksempel 24	200 mg/kg	245 g	1,88 mg ± 0,13
Derivat ifølge eksempel 27	200 mg/kg	242 g	1,95 mg ± 0,14
Dipyridamol	200 mg/kg	248 g	3,75 mg ± 0,32
Acetylsalicylsyre	200 mg/kg	243 g	3,13 mg/kg ± 0,24

De opnåede resultater viser den gode tolerans og den nyttige blodpladeaggregationsinhibering tilligemed antiaggregationsvirkningen på de røde blodlegemer samt antithromboseegenskaber af forbindelserne (I) og (II), hvilke egenskaber gør dem særdeles anvendelige inden for den humane og veterinære medicin.

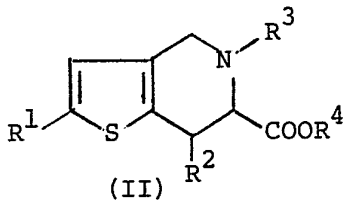
P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåde til fremstilling af 4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]- eller -[3,2-c]pyridiner med en af formlerne



(I)

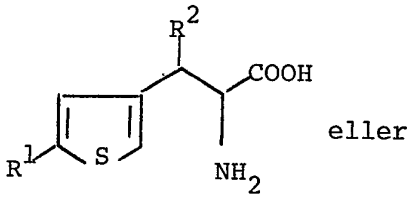
eller



(II)

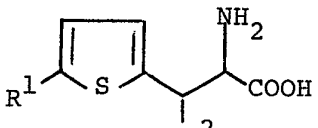
hvori R^1 betegner hydrogen eller halogen, R^2 betegner hydrogen eller en hydroxygruppe, og R^3 og R^4, som kan være ens eller forskellige, hver betegner hydrogen eller en alkylgruppe med 1-6 carbonatomer eller en phenylalkylgruppe med 1-6 carbonatomer i alkylgruppen, hvori phenylkernen eventuelt er substitueret med 1-3 halogenatomer eller C_{1-6}-alkylgrupper, C_{1-6}-alkoxygrupper, hydroxy-, nitro-, cyano- eller trifluormethylgrupper, hvorhos de derivater, hvori R^2 er en hydroxygruppe, har cis-konfiguration, eller syreadditionssalte deraf, k e n d e t e g n e t ved, at man

kondenserer en forbindelse med formlen:



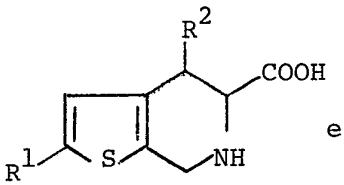
(III)

eller



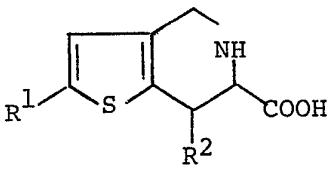
(IV)

hvori R^1 og R^2 har de ovenfor anførte betydninger, med formaldehyd i vandig opløsning i nærværelse af en stærk uorganisk syre til opnåelse af et derivat med formlen:



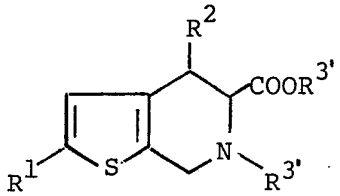
(Ia)

eller



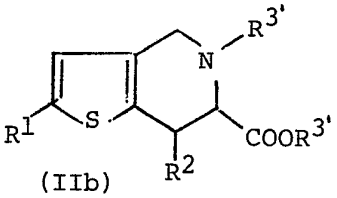
(IIa)

hvori R^1 og R^2 har de ovenfor anførte betydninger, hvorpå man om ønsket omsætter derivatet med formlen (Ia) eller (IIa) med et halogenid med formlen $R^{3'}X$, hvori $R^{3'}$ har samme betydning som R^3 med undtagelse af hydrogen, og X er halogen, til opnåelse af et derivat med formlen:



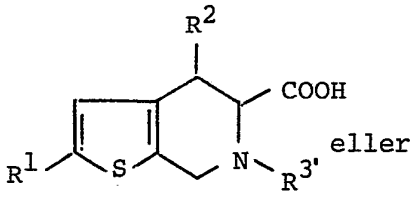
(Ib)

eller



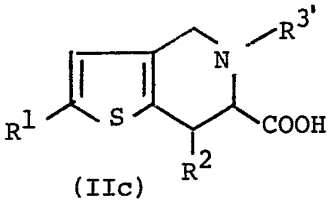
(IIb)

hvori R^1, R^2 og $R^{3'}$ har den ovenfor anførte betydning, hvorefter man om ønsket underkaster derivatet (Ib) eller (IIb) en hydrolyse til opnåelse af et derivat med formlen:



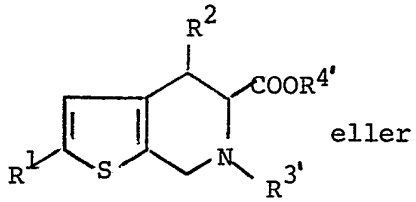
(Ic)

eller



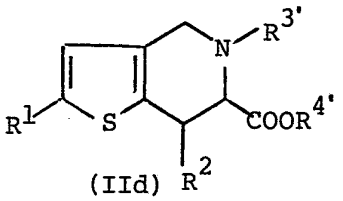
(IIc)

hvori R^1, R^2 og $R^{3'}$ har den ovenfor anførte betydning, hvorpå man om ønsket esterificerer derivatet med formlen (Ic) eller (IIc) med en alkohol med formlen $R^{4'}OH$, hvori $R^{4'}$ har samme betydning som R^4 med undtagelse af hydrogen, til opnåelse af et derivat med formlen:



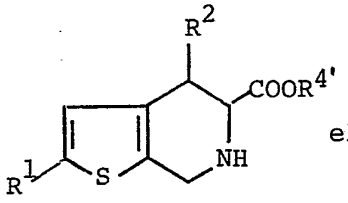
(Id)

eller



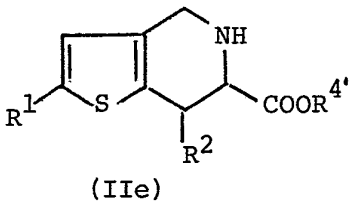
(IId)

hvori R^1, R^2, $R^{3'}$ og $R^{4'}$ har den ovenfor anførte betydning, eller hvorpå man om ønsket esterificerer derivatet med formlen (Ia) eller (IIa) med en alkohol $R^{4'}OH$, hvori $R^{4'}$ har den ovenfor anførte betydning, til opnåelse af et derivat med formlen:



(Ie)

eller



(IIe)

hvori R^1, R^2 og $R^{4'}$ har den ovenfor anførte betydning, hvorpå derivatet med formlen (Ie) eller (IIe) eventuelt omsættes med et halogenid med formlen $R^{3'}X$, hvori $R^{3'}$ har den ovenfor anførte betydning, til opnåelse af derivatet med formlen (Id) eller (IId), og at man

om ønsket på i og for sig kendt måde omsætter et derivat med formlen (I) eller (II) med en uorganisk eller organisk syre til opnåelse af et syreadditionssalt deraf.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at kondensationen udføres ved en temperatur mellem stuetemperatur og ca. 50°C, idet den uorganiske syre er saltsyre eller svovlsyre.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at omsætningen med halogenidet med formlen $R^{3'}X$ udføres i en indifferent, organisk opløsning i nærværelse af et syrebindende middel ved en temperatur fra 60°C til opløsningsmidlets kogepunkt.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at hydrolysen er en alkalisk hydrolyse, der udføres med et alkalimetalhydroxid i et alkoholopløsningsmiddel.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at esterifikationstrinet udføres i nærværelse af gasformigt hydrogenchlorid.

Fremdragne publikationer:

DK ansøgninger nr. 555/74 (patent nr. 136651)
3164/75 (patent nr. 136652)
463/76 (patent nr. 136653)
2358/76
2799/76.