NORGE
[NO]

STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN

[B] (11) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 149241

[C] (45) PATENT MEDDELT
14. MARS 1984

(51) Int. Cl.³ C 07 D 333/28

(21) Patentsøknad nr. 781214

(22) Inngitt 06.04.78

(24) Løpedag 06.04.78

(41) Alment tilgjengelig fra 10.10.78
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 05.12.83

(30) Prioritet begjært 07.04.77, USA, nr. 785467

(54) Oppfinnelsens benevnelse Analogifremgangsmåte for fremstilling av hypolipidemisk aktive 4(2-tienylmetylamino)benzosyreforbindelser.

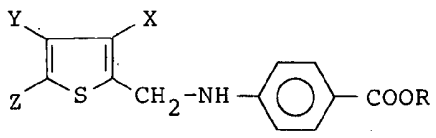
(71)(73) Søker/Patenthaver THE DOW CHEMICAL COMPANY,
2030 Abbott Road,
Midland, MI,
USA.

(72) Oppfinner EUGENE ROSS WAGNER,
Carmel, County of Hamilton, IN,
DONALD PAUL MATTHEWS,
Indianapolis, County of Marian, IN,
USA.

(74) Fullmektig Bryns Patentkontor A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner BRD (DE) off.skrift nr. 2609962 (C07C 101/52)

Foreliggende oppfinnelse angår fremstilling av hypolipidemisk aktive 4-(2-tienylmetylamino)benzosyrederivater med formelen:



(I)

og farmasøytisk akseptable salter derav, hvor R er hydrogen eller (C_{1-3})alkyl, og X, Y og Z uavhengig er hydrogen, klor eller brom, forutsatt at minst en av X, Y og Z er klor eller brom.

4-(2-tienylmetylamino)benzosyrer og den tilsvarende etylester er beskrevet i Izo. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim. 1967 (9), 2049 - 55 (C.A. 68; 104869K). Det er ikke beskrevet noen anvendelse for forbindelsene. Hollandsk patentsøknad nr. 7602332 beskriver 4[aryl(alkyl eller alkenyl)-amino]-benzosyreforbindelser med hypolipidemisk aktivitet.

Farmasøytisk akseptable salter av nevnte p-aminobenzosyreforbindelser med formel I dannes når R er hydrogen. Med farmasøytisk akseptable salter forstås syreaddisjonssalter av de baser som vil danne et salt med en karboksylsyre og som ikke vil frembringe skadelige fysiologiske effekter når preparatet eller forbindelsen tilføres et dyr i doser som er i overensstemmelse med god farmakologisk aktivitet. Egnede baser innbefatter således alkalimetall- og jordalkalimetallhydroksyder, -karbonater og -bikarbonater slik som natriumhydroksyder, kaliumhydroksyder, kalsiumhydroksyd, kaliumkarbonat, natriumkarbonat, eller magnesiumkarbonat, ammoniakk, primære, sekundære og tertiære aminer. Man kan også fremstille aluminiumsalter ved å behandle det tilsvarende natriumsalt med et passende aluminiumkompleks, f.eks. aluminiumkloridheksahydrat.

Forbindelser fremstilt ifølge foreliggende oppfinnelse har vist seg å ha hypolipidemisk aktivitet i dyr, og da spesielt hos pattedyr. Med hypolipidemisk aktivitet forstås her den effekt at man senker blodets lipidinnhold, da spesielt kolesterol- og triglyceridinnholdet i serum. Forbindelsene er derfor egnet for behandling av serumhyperlipidemi hos pattedyr, og da spesielt for behandling av hyperkolesterolemi og hypertriglyceridemi, dvs. slike tilstander hvor man har unormalt høyt innhold av lipider, kolesterol eller triglycerider, respektivt. Forbindelsene kan tilføres oralt eller parenteralt ved subkutan, intravenøs eller intraperitoneal injeksjon eller ved implantering, oral tilførsel er imidlertid å foretrekke.

Den effektive hypolipidemiske mengde av forbindelser med formel I som skal tilføres pasienten, dvs. den mengde som effektivt og betydelig senker nivået av lipider i serumet, vil være avhengig av faktorer som pasientens tilstand, den spesielle forbindelse som skal anvendes, det lipidnivå man ønsker å oppnå, hvorvidt pasienten er hyperlipidemisk eller ikke, tilførselsmåten og tilførselsperioden. Vanligvis vil en effektiv daglig dose variere fra 1 til 200 mg/kg kroppsvekt, og det er foretrukket å bruke en daglig dose som varierer fra 10 til 100 mg/kg kroppsvekt.

For oral tilførsel kan man fremstille preparater av p-aminobenzosyreforbindelsene på vanlig kjent måte. Man kan f.eks. bruke granulering og sammenpressing, og hvis det er nødvendig, å blande og oppløse eller suspendere bestanddelene alt ettersom hvorledes man ønsker sluttproduktet. Man kan således bruke tallrike farmasøytiske former av forbindelsene. F.eks. kan den rene forbindelsen brukes som sådan eller blandes med et fast bærestoff eller fortynningsmiddel. Vanligvis er det foretrukket å bruke uorganiske farmasøytiske fortynningsmidler og da spesielt faste uorganiske fortynningsmidler. En årsak til dette er at det er kjent et stort antall uorganiske materialer som er farmasøytisk sikre og akseptable, foruten at de i vesentlig grad letter opparbeid-

ingen av preparatene. Preparatene kan være i form av tabletter, pulvere, kapsler, suspensjoner eller oppløsninger, og preparatene kan fremstilles ved vanlig kjent standardfarmasøytisk teknikk. Tablettpreparater kan være belagt eller ubelagt, og de kan være brusende eller ikke-brusende. Vanlige fortynningsmidler for opparbeidelse av tabletter kan brukes. Man kan f.eks. bruke inerte fortynningsmidler slik som magnesiumkarbonat eller laktose, nedbrytningsmidler slik som maisstivelse eller algin-syre, samt smøremidler slik som magnesiumstearat.

Hvis man bruker et flytende fortynningsmiddel, så kan preparatet være i form av en myk gelatinkapsel, en sirup, en flytende oppløsning eller suspensjon.

Hydrokarbonoppløseligheten av de fleste forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse er tilstrekkelig høy til at man kan bruke farmasøytisk akseptable oljer og fortynningsmidler. Man kan f.eks. bruke vegetabilske eller animalske oljer slik som solsikkefrøolje, maisolje eller vanlig torskeleverolje. Glycerin kan også brukes. I forbindelse med sistnevnte oppløsningsmiddel kan man tilsette 2-30 vekt-% vann. Når man bruker vann alene som fortynningsmiddel, eller når oppløseligheten av forbindelsen i oljen er lav, kan preparatene tilføres i form av en suspensjon.

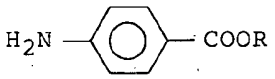
Emulsjonspreparater kan opparbeides ved å bruke emulgeringsmidler slik som sorbitantrioleat, polyoksyetylensorbitanmonooleat, lecitin, gummi acacia eller tragant. Vandig baserte suspensjoner kan fremstilles ved hjelp av fuktemidler slik som polyetylenoksy-kondensasjonsprodukter av alkylfenoler, av fettalkoholer eller fettsyrer med et suspenderingsmiddel, f.eks. et hydrofilt kolloid slik som polyvinylpyrrolidon. Emulsjonene og suspensjonene kan inneholde vanlige kjente tilsetningsmidler slik som søtningsmidler, fargestoffer eller konserveringsmidler.

Forbindelsene kan også innarbeides i matvarer, f.eks. smør, margarin, spiselige oljer, kasein eller karbohydrater. Slike spesielt fremstilte næringsmidler kan tilføres som hele eller som en del av en diett eller som et supplement til en diett. Slike preparater inneholder fortrinnsvis 0,02-2,0% av den aktive ingrediens når matvaren tilføres som den totale diett. Preparatene kan inneholde høyere konsentrasjoner av den aktive bestanddel når de tilføres som supplement.

For parenteral bruk kan forbindelsene opparbeides med sterile bestanddeler, hvoretter de kan bearbeides og pakkes aseptisk. De kan tilføres intravenøst eller intramuskulært. Brukbare oppløsningsmidler for slike preparater er polyalifatiske alkoholer og blandinger av disse. Spesielt tilfredsstillende er farmasøytisk akseptable glykoler slik som propylenglykol og blandinger med denne forbindelse. Glycerin er spesielt brukbar. Væsken kan tilsettes 25-30 volum-% vann hvis dette er ønskelig. En 80% vandig propylenglykoloppløsning er et spesielt hensiktsmessig oppløsningsmiddelsystem. Det er ønskelig å justere pH til ca. 7,4 og ellers oppløsningen være isotonisk forenlig med kroppens isotoni. Basiteten kan reguleres ved å tilsette en base alt etter behov, og en spesielt hensiktsmessig base er monoetanolamin. Det kan ofte være ønskelig å tilsette et lokalt bedøvelsesmiddel av den type som brukes for slike formål.

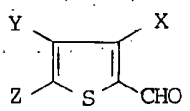
Prosenten av forbindelsen som brukes i det farmasøytiske bærestoff eller fortynningsmiddel kan variere. Det er nødvendig at preparatet inneholder en så stor mengde at man får en egnet dose, og det er foretrukket å bruke farmasøytiske preparater som inneholder minst 10 vekt-% av forbindelsen. Aktiviteten øker med konsentrasjonen av midlet i bærestoffet, men det er foretrukket å bruke preparater som inneholder en betydelig mengde av bærestoffet, dvs. minst 1% og fortrinnsvis minst 5%, ettersom dette letter tilførselen av forbindelsen.

De ovenfor definerte forbindelsene med formel I fremstilles ifølge foreliggende oppfinnelse ved at en 4-aminobenzosyre-forbindelse med formelen:



(II)

hvor R har den ovenfor angitte betydning, omsettes med et 2-tiofenkarboksyaldehyd med formelen:



(III)

hvor X, Y og Z har den ovenfor angitte betydning, fulgt av reduksjon av den således oppnådde Schiff-base, og, om ønsket, omdannelse av en erholdt forbindelse til farmasøytisk akseptable salter derav.

En hensiktsmessig fremgangsmåte er således å blande nevnte Schiff's base med et overskudd av etanol og vann. Fortynnet vandig natriumhydroksyd kan eventuelt tilsettes blandingen. Natriumborhydrid tilsettes ved romtemperatur og omrøres inntil man får en fullstendig oppløsning. Blandingen blir så oppvarmet, helt over i is og surgjort. Produktet kan frafiltreres som et bunnfall og ytterligere renses på kjent måte.

Flere av de halogenerte aldehyder kunne ikke skaffes og ble fremstilt ved fremgangsmåter som generelt er kjente fra litteraturen. Således ble f.eks. 4-klor-2-tiofenkarboksaldehyd fremstilt ved å klorere 2-tiofenkarboksaldehyd ved å bruke et stort overskudd av aluminiumkloridkatalysatoren. Se J. Org. Chem., 21, 381 (1956) og J. Heter. Chem., 393 (1976). Ved å bruke samme fremgangsmåte kan 4,5-diklor-2-tiofenkarboksaldehyd fremstilles fra 5-klor-2-tiofenkarboksaldehyd. Se C.A. 57; 16526i.

De følgende eksempler illustrerer oppfinnelsen.

Eksempel 1

4-(3,5-diklor-2-tienylmetylamino)benzosyre

En 50% oljedispersjon (5,8 g, 0,12 mol) av natriumhydrid ble vasket med heksan under nitrogen. Dispersjonen ble så tilsatt 200 ml tørr dimetylformamid og 29,5 g (0,113 mol) fast etyl-N-trifluoracetyl-4-aminobenzoat. Reaksjonen er svak eksotermisk. Blandingen ble avkjølt til 20°C og omrørt i 15 minutter. Deretter tilsatte man 27,7 g 3,5-diklor-2-brommetyltiofen. Reaksjonsmassen ble så holdt på 85°C i 18 timer. Deretter ble blandingen helt over i 1 liter kaldt vann og ekstrahert med metylenklorid. Produktet ble tørket med vannfritt natriumsulfat og den tørre oppløsning ble konsentrert til en brun olje. Oljen ble kokt under tilbakeløp i 2 timer med 50 ml etanol og 200 ml 5-N-natriumhydroksyd. Den avkjølte brune oppløsningen ble fortynnet med vann og surgjort med eddiksyre. Det urene 4-(3,5-diklor-2-tienylmetylamino)benzosyre ble oppnådd som en brun gummi, og en omkrystallisering fra propylenglykolmetyleter ga 17 g brune krystaller, smeltepunkt 169-170,5°C.

Elementæranalyse:	C	H	N
Beregnet:	47,71	3,00	4,63
Funnet:	47,8	3,06	4,74

Eksempel 2

4-(5-klor-2-tienylmetylamino)benzosyre

En blanding inneholdende 46,6 g (0,34 mol) p-aminobenzosyre, 50 g (0,34 mol) 5-klor-2-tiofenkarboksaldehyd og 400 ml toluen ble oppvarmet under tilbakeløp i ca. 3,5 timer. Det vann som ble dannet ble oppsamlet i en Dean-Stark-felle. Reaksjonsmassen ble avkjølt og Schiff's base oppsamlet som et svakt brunt faststoff. En blanding av den intermediære Schiff-basen og 1,2 liter iseddik ble tilsatt 21,2 g (0,35 mol) dimetylaminoboran. Reaksjonsmassen ble holdt på 40°C i en halv time og helt over i 2 liter isvann. Det hvite bunnfallet av 4-(5-klor-2-tienylmetylamino)benzosyre

ble vasket med vann, tørket og omkrystallisert fra toluen. Utbytte 60 g (70%), smeltepunkt 177-178°C.

Eksempel 3

4-(4,5-diklor-2-tienylmetylamino)benzosyre

Trinn 1: Syntese av 4,5-diklor-2-tiofenkarboksaldehyd. En mekanisk rørt oppløsning av 31,8 g (0,217 mol) 5-klor-2-tiofenkarboksaldehyd i 150 ml metylenklorid ble i små porsjoner tilsatt 65 g (0,487 mol) vannfritt aluminiumklorid. Blandingen reagerer eksotermisk og blir purpurrød. Den ble så tilsatt 20,6 g (0,29 mol) klor i 250 ml karbontetraklorid, og tilsetningen ble utført dråpevis. Reaksjonsmassen ble kokt under tilbakeløp i ca. 15 timer, hvoretter man tilsatte ytterligere 15 g (0,21 mol) klor i 200 ml karbontetraklorid. Blandingen ble så kokt under tilbakeløp i ytterligere 7 timer. Reaksjonen ble så stoppet ved å helle blandingen over i 1 liter isvann. Det vandige lag ble ekstrahert med kloroform. Kloroformoppløsningen ble vasket med vann og natriumbikarbonat. Etter tørking med vannfritt natriumsulfat og konsentrasjon under vakuum, fikk man en gulbrun olje. Det urene 4,5-diklor-2-tiofenkarboksaldehyd utskrystalliserte ved henstand og ble senere omkrystallisert fra heksan.

Trinn 2: Produktet 4-(4,5-diklor-2-tienylmetylamino)-benzosyre, smeltepunkt 225-227°C ble fremstilt fra det ovennevnte mellomprodukt, nemlig 4,5-diklor-2-tiofenkarboksaldehyd på samme måte som beskrevet i eksempel 2 ovenfor. Utbytte 88%.

Elementæranalyse:	C	H	N
Beregnet:	47,71	3,00	4,63
Funnet:	47,6	3,09	4,80

I tillegg til de forbindelser som er beskrevet i de ovenstående eksempler, ble andre forbindelser fremstilt ved å bruke i alt vesentlig samme teknikk. Disse forbindelser er angitt i eksemplene 4, 5 og 6 på følgende måte:

Eksempel 4

4-(5-klor-2-tienylmetylamino)benzosyreetylester, smeltepunkt 108-109°C ble fremstilt fra etyl-p-aminobenzoat og 5-klor-2-tiofenkarboksaldehyd. Utbytte 87%.

Elementæranalyse:	C	H	N
Beregnet:	56,86	4,77	4,73
Funnet:	56,7	4,87	4,85

Eksempel 5

4-(5-brom-2-tienylmetylamino)benzosyre, smeltepunkt 188-190°C. Utbytte 61%.

Elementæranalyse:	C	H	N
Beregnet:	46,18	3,23	4,49
Funnet:	46,1	3,29	4,65

Eksempel 6

4-(4-klor-2-tienylmetylamino)benzosyre, smeltepunkt 165-168°C. Utbytte 96%.

Elementæranalyse:	C	H	N
Beregnet:	53,85	3,77	5,23
Funnet:	53,6	3,80	5,38

Den hypolipidemiske effekt av forbindelser med formel I ble demonstrert på rotter. Forbindelsen ble oppløst i aceton, absorbert på silisiumdioksydgel og blandet med normal mat slik at man fikk en konsentrasjon på 0,125% av forbindelsen i maten. Den behandlede mat ble tilført hannrotter som veiet 150-160 g over 14 dager. Etter denne periode ble rottene avlivet og det ble tatt blodprøver. Leveren ble fjernet, veiet og frosset for videre analyse. De relative nivåer av serumkolesterol i blodprøvene ble bestemt ved Henly's metode, A.A. Henly, Analyst, 82, 286 (1957). Leverkolesterol ble målt ved Sperry-Webb-metoden. Journal of Biological Chemistry 187, 97 (1950). De relative nivåer

av triglycerider i blod og lever ble bestemt ved Von Handel og Zilversmit-metoden, J. Lab. Clin. Med. 50, 152 (1957) og Clin. Chem. 7, 249 (1961). Ved å ta det midlere nivå hos en rekke kontrollrotter som standard, kunne man fastslå resultatene i de behandlede gruppene.

Resultatene er angitt i tabell I.

TABELL I

Forbindelse eksempel nr.	Serum-kolesterol*	Serum-triglycerider*	Lever-kolesterol*	Lever-triglycerider*	Kropps-vekt*	Lever-vekt
1	-31	-45	- 3	+ 2	0	+16
2	-34	-58	+ 7	-14	-3	+ 8
3	-43	-56	- 3	-39	-2	+11
4	-42	-61	+ 8	- 8	-5	+ 2
5	-30	-54	+17	-11	-1	+10
6	-35	-60	+14	-14	-6	+20

*Alle data representerer prosentforandring i verdiene for de behandlede dyr ved sammenligning med kontrollgruppen.

Data i tabell I indikerer klart at forbindelser ifølge foreliggende oppfinnelse er meget effektive som hypolipidemiske midler for å senke serumkolesterol og serumtriglycerider mens man samtidig bare får minimale forandringer med hensyn til levervekt og total kroppsvekt. Forbindelsene 4-(4,5-diklor-2-tienylmetylamino)benzosyre (eksempel 3) og 4-(5-klor-2-tienylmetylamino)benzosyreetylester (eksempel 4) har vist seg å være spesielt brukbare ved senking av kolesterolnivået hos pattedyr. Videre har det vist seg at forbindelsene 4-(5-klor-2-tienylmetylamino)benzosyreetylester (eksempel 4) og 4-(4-klor-2-tienylmetylamino)benzosyre (eksempel 6) har vist seg å være spesielt effektive for senking av serumtriglycerider.

Sammenligningsforsøk

Forsøksforbindelsene ble oppløst i aceton, opptatt på en silisiumdioksydgel og blandet med normalt oppmalt fôr for oppnåelse av konsentrasjoner av 0,125 % av de aktuelle forbindelser i dyrefôret. Det behandlede fôr ble administrert til hannrotter av Sprague-Dawley-stammen med en vekt på 150-160 g i løpet av en 14 dagers periode. En gruppe på seks rotter ble benyttet for vurderingen av hver av de tre testede forbindelsene. Ytterligere grupper av kontrollrotter som fikk ubehandlet fôr ble benyttet som kontrolldyr. Etter den 14 dagers fôringsperioden ble rottene veiet og avlivet. Blodprøver ble oppsamlet og leveren fjernet. De relative nivåer av serumkolesterol og diglycerider i blodprøvene ble bestemt enten ved bruk av de manuelle metoder beskrevet av Henly (Analyst 82, 286 (1957)) og av Van Handel og Zilversmidt (J. Lab. Clin. Med. 50, 152 (1957) og Clin. Chem. 7, 249 (1961)) eller ved å bruke en automatisert metode som anvender en Technicon Autoanalyzer. Ved å ta de gjennomsnittlige nivåene hos kontrollrottene som standard, ble de midlere resultater oppnådd i de behandlede grupper derved konstatert. Resultatene er vist i nedenstående tabell uttrykt som relativ forandring i verdier for de behandlede dyr sammenlignet med kontrollgruppen.

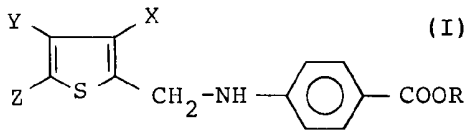
Tabell

Forbindelse	Serum-kolesterol	Serum-triglycerider
4-(((2-tienyl)metyl)amino)benzosyre (DE-off.skrift 2609962)	-25	-27
4-(((5-klor-2-tienyl)metyl)-amino)benzosyre (foreliggende oppfinnelse)	-34	-58
4-(((4-klor-2-tienyl)metyl)-amino)benzosyre (foreliggende oppfinnelse)	-35	-60

Det fremgår fra de ovenstående data at forbindelsene fremstilt ifølge foreliggende oppfinnelse konsekvent har omkring 30% større hypokolesterolemisk aktivitet enn den kjente forbindelsen. Enda mer uventet er økningen i hypotriglycerolemisk aktivitet som er mer enn fordoblet for forbindelsene i foreliggende oppfinnelse sammenlignet med den tidligere kjente forbindelsen.

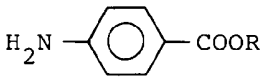
P a t e n t k r a v

Analogifremgangsmåte for fremstilling av hypolipidemisk aktive 4-(2-tienylmetylamino)benzosyrederivater med formelen:



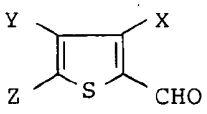
(I)

og farmasøytisk akseptable salter derav, hvor R er hydrogen eller (C_{1-3})alkyl, og X, Y og Z uavhengig er hydrogen, klor eller brom, forutsatt at minst en av X, Y og Z er klor eller brom, k a r a k t e r i s e r t v e d at en 4-amino-benzosyreforbindelse med formelen:



(II)

hvor R har den ovenfor angitte betydning, omsettes med et 2-tiofenkarboksyaldehyd med formelen:



(III)

hvor X, Y og Z har den ovenfor angitte betydning, fulgt av reduksjon av den således oppnådde Schiff-base, og, om ønsket, omdannelse av en erholdt forbindelse til farmasøytisk akseptable salter derav.