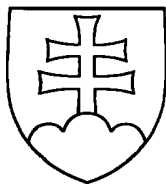


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 26.06.96
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 1920/95-1
(32) Dátum priority: 30.06.95
(33) Krajina priority: CH
(40) Dátum zverejnenia: 03.06.98
(86) Číslo PCT: PCT/EP96/02842, 26.06.96

(21) Číslo dokumentu:

1783-97

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶:

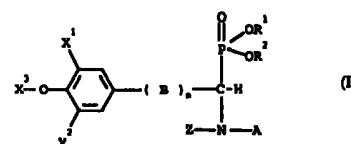
**A 61K 31/66,
A 61K 31/675**

(71) Prihlasovateľ: SYMPHAR SA, Versoix, CH;
SmithKline Beecham PLC, Brentford, Middlesex, GB;

(72) Pôvodca vynálezu: Nguyen Lan Mong, Versoix, CH;
Niesor Eric, Versoix, CH;
Bentzen Craig Leigh, Versoix, CH;
Phan Hieu Trung, Versoix, CH;
Diep Vinh Van, Versoix, CH;
Floret Simon, Versoix, CH;
Azoulay Raymond, Versoix, CH;
Bulla Alexandre, Versoix, CH;
Guyon-Gellin Yves, Versoix, CH;
Ife Robert John, Harlow, Essex, GB;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Aminofosfonátové zlúčeniny, spôsob ich výroby, farmaceutický prostriedok s ich obsahom a ich použitie**

(57) Anotácia:
Aminofosfonátové zlúčeniny všeobecného vzorca (I),
α-substituované fenolovými skupinami a ich farmaceu-
tický prijateľné soli, farmaceutické kompozície obsa-
hujúce tieto zlúčeniny, ktoré sú aktívne pri znižovaní
hladiny lipoproteínu (a) plazmy.



Aminofosfonátové zlúčeniny, spôsob ich výroby, farmaceutický prostriedok s ich obsahom a ich použitie

Oblasť techniky

Vynález sa týka nového terapeutického využitia aminofosfonátových zlúčenín na znižovanie hladiny lipoproteínu (a) v plazme a tkanivách. Bližšie sa vynález týka nového použitia aminofosfonátových derivátov na prípravu farmaceutických kompozícií, užitočných na liečbu chorôb alebo porúch spojených s vysokými koncentráciami lipoproteínu (a) v plazme a v tkanivách, ako sú napríklad ateroskleróza, trombóza, restenóza po angioplastii a porážka. Vynález tiež poskytuje spôsob na zvýšenie trombolýzy a prevencie trombózy, a spôsob liečby restenózy po angioplastii podávaním aminofosfonátových zlúčenín pacientovi, ktorý to potrebuje, v dávkach, účinných na zníženie hladín lipoproteínu (a) v plazme a tkanivách. Vynález navyše poskytuje tiež skupinu nových aminofosfonátových zlúčenín na využitie v hore uvedených použitiach a v kompozíciách.

Doterajší stav techniky

Nedávne epidemiologické štúdie ukázali, že jestvuje silné spojenie medzi zvýšenými hladinami lipoproteínu (a) [Lp(a)] v plazme a v tkanivách a vznikom koronárnych srdcových ochorení, porážkami a ochorením periférnych tepien. Lp(a) sa v súčasnosti považuje za nezávislý rizikový faktor kardiovaskulárnych chorôb; navyše sa stále viac uznáva jeho úloha v podpore trombózy znižovaním trombolýzy, pozri napríklad Schreiner P. A., Morrisett J. D., Sharrett A. R., Patsch W., Tyroler H. A., Wu K. a Heiss G.: Lipoprotein(a) as A Risk Factor for Preclinical Atherosclerosis", Arteriosclerosis and Thrombosis 13, 826 až 833 (1993); Rath M., Niendorf A., Reblin T., Dietel M., Krebber H. J. a Beisiegel U.: Detection and Quantification of Lipoprotein (a) in the

Arterial Wall of 107 Coronary Bypass Patients, Arteriosclerosis 9, 579 až 592 (1989); MBewu A. D. a Durrington P. N.: Lipoprotein(a): Structure, Properties and Possible Involvement in Thrombogenesis and Atherogenesis, Atherosclerosis 85, 1 až 14 (1990). Stále viac sa zisťujú komplikácie trombózy v cievnych okluziách a akútnych kardiovaskulárnych syndrómov. Jeden z mechanizmov, ktorý sprostredkúva trombózu spojenú s uvoľňovaním aterosklerózných plakov zahŕňa zvýšené hladiny lipoproteínu (a). Štruktúra Lp(a) pozostáva z častíc podobných lipoproteínu s nízkou hustotou (LDL) s glykoproteínom, apolipoproteínom (a) [apo(a)], ktorý je viazaný cez disulfidový mostík k apo B-100 zoskupeniu na LDL. Z hľadiska štruktúry je význačná analógia medzi apo(a) a plazminogénom, prekursorom plazmínu, ktorý štiepi fibrín pri rozpúšťaní krvných zrazenín. Na rozdiel od plazminogénu nie je však apo(a) substrát pre plazminogénne aktívatory. Táto štruktúrna podobnosť viedla výskumníkov k tvrdeniu a neskôr k ukážke, že apo(a) ruší normálnu fyziologickú funkciu plazminogénu a tak vedie k potenciálnej trombogénovej aktivite Lp(a); pozri napríklad: Chauhan A., Williams N.R., Metcalfe J.C., Grace A.A., Liu A.C., Lawn R.M., Kemp P.R., Schofield P. M. a Grainger D. J.: Activation of Transforming Growth Factor- β is Inversely Correlated with Three Major Risk Factors for Coronary Artery Disease: Lipoprotein(a), LDL-Cholesterol and Plasminogen Activator Inhibitor-1, Circulation, Vol. 90, číslo 4, časť 2, strana I-623 (1994); a Palabrica T. M., Liu A. C., Aronovitz M. J., Furie B., Furie B. C. a Lawn R.: Influence of Human Apo(a) Expression on Fibrinolysis *in vivo* in Transgenic Mice, Circulation, Vol. 90, číslo 4, časť 2, strana I-623 (1994).

Na základe predpokladanej svojej trombogénnej aktivity zahŕňa sa Lp(a) tiež do ochorení periférnych tepien, bližšie do porážky. Nedávne klinické výsledky ukázali, že hladiny Lp(a) v sére boli významne vyššie u pacientov s porážkou ako u porovnávacej normálnej populácie; Asplund K., Olsson T., Viitanen M. a Dahlen G.: Lp(a) Lipoprotein in Patients with Acute Stroke, Cerebrovasc. Diseases 1, 90 až 96 (1991).

Bežnou komplikáciou po perkutálnej transluminálnej angioplastii je restenóza, ktorá vzniká v až 40 % prípadov v priebehu 3 až 6 mesiacov po zásahu. Usudzuje sa, že hlavnou príčinou restenózy je abnormálna aktivácia a proliferácia buniek vaskulárnych hladkých svalov. Dôkaz, že vysoké hladiny Lp(a) plazmy sú vo vzťahu s proliferáciou a aktiváciou buniek hladkých svalov sa ukutočnil *in vitro* a *in vivo* a opisuje sa v nasledujúcich dvoch štúdiách: Grainger D. J., Kirschenlohr H. L., Metcalfe J. C., Weissberg P. L., Wade D. P. a Lawn R. M.: Proliferation of Human Smooth Muscle Cells Promoted by Lipoprotein(a), *Science* 260, 1665 až 1658 (1993); a Grainger D. J., Kemp P. R., Liu A. C., Lawn R. M. a Metcalfe J. C.: Activation of Transforming Growth Factor- β is Inhibited by Apolipoprotein(a), *Circulation* 90, číslo 4, časť 2, strana I-623 (1994).

Tieto štúdie viedli k hypotéze o súvisi zvýšených hladín plazmového Lp(a) so zvýšeným výskytom restenózy. Hypotéza sa potvrdila výsledkami nedávnych klinických štúdií, ktoré ukázali, že u pacientov s vysokou hladinou plazmového Lp(a), znížením hladiny Lp(a) o viac ako 50 % LDL-apheris sa významne znížil výskyt restenózy; pozri napríklad Yamaguchi H., Lee Y. J., Daida H., Yokoi H., Miyano H., Kanoh T., Ishiwata S., Kato K., Nishikawa H., Takatsu F., Kutsumi Y., Mokuno H., Yamada N. a Noma A.: Effectiveness of LDL-Apheresis in Preventing Restenosis After Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty (PTCA); LDL-Apheresis Angioplasty Restenosis Trial (L-ART): *Chemistry and Physics of Lipids* 67/68, 399 až 403 (1994).

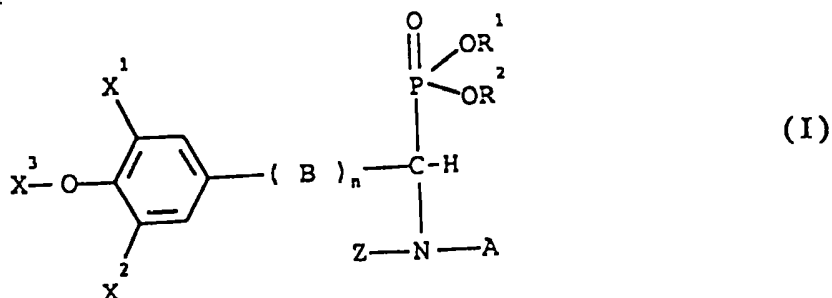
Z hore uvedenej diskusie vyplynulo, že je rozumné znížovať hladinu Lp(a) v plazme rizikových pacientov so zvýšenými hladinami (>20 až 39 mg/100 ml). U jednotlivcov sa zdá byť koncentrácia Lp(a) v značnej miere určená dedične a je silne ovplyvňovaná diétnym režimom. Preukázalo sa, že rôzne hormóny (napríklad steroidné hormóny, rastové hormóny, tyroidné hormóny) regulujú hladiny Lp(a) v plazme človeka. Osobitne zaujímavé je, že liečiva, ktoré účinne znižujú LDL, ako je sekvestrant žlčovej kyseliny cholestyramín alebo

HMGCoA-reduktázové inhibítory lovastín alebo pravastín neovplyvňujú hladinu Lp(a). Rovnako neúčinné sú liečiva zo skupiny fibrátov: klofibrát alebo bazfibrát a antioxidačné liečivo probucol. Jediným opísaným liečivom, ktoré znižuje Lp(a) je kyselina nikotínová. Aby bola kyselina nikotínová účinná, musí sa však pri používaní dávkovať vo vysokých dávkach (4 g/deň), čo zasa prináša vážne vedľajšie účinky, ktoré bránia jej širokému využitiu: návaly krvi, cievne dilatácie a hepatotoxickosť. Z uvedeného vyplýva, že sa doteraz nedosiahlo riešenie lekárskej potreby na znižovanie hladiny Lp(a) plazmy ako nezávislého faktora srdcovocievnych ochorení.

Na rozdiel od LDL sa Lp(a) nachádza iba u cicavcov s vysokým stupňom vývoja (človek a humánne primáty) a je syntetizovaný výhradne v pečňových bunkách. Opice *Cynomolgus* majú Lp(a) podobný ľudskému Lp(a) vrátane jedinečného apolipoproteínu apo(a). Tento primát ponúka experimentálnu príležitosť na štúdium syntézy Lp(a) a úlohy Lp(a) pri ateroskleróze a trombóze. Na výber aminofosfonátových derivátov so vzorcom (I) skúškami *in vitro* sa selektovali primárne kultúry hepatocytov opice *Cynomolgus*. Uvedené zlúčeniny majú schopnosť modulovať hladiny Lp(a). Pred výberom sa systém skúšok overil skúškami s referenčnou látkou kyselinou nikotínovou a so steroidnými hormónmi, o ktorých je známe, že u človeka znižujú Lp(a).

Podstata vynálezu

Vynález sa týka neočakávaného zistenia, že deriváty aminofosfonátov sú účinnou látkou na znižovanie lipoproteínu (a) v plazme a v tkanivách. Z prvého hľadiska predkladá tento vynález na použitie zlúčeninu so vzorcom (I):



kde:

X^1 a X^2 môžu byť rovnaké alebo od seba rozdielne a znamenajú vodík, nerozvetvenú alebo rozvetvenú alkylovú alebo alkoxylovú skupinu, ktorá má od 1 do 8 uhlíkových atómov, skupinu hydroxy alebo skupinu nitro,

X^3 je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka, X^3O a jeden z dvoch ďalších substituentov X^1 alebo X^2 môže vytvárať alkyldiéndioxy-kruh, ktorý má od 1 do 4 atómov uhlíka,

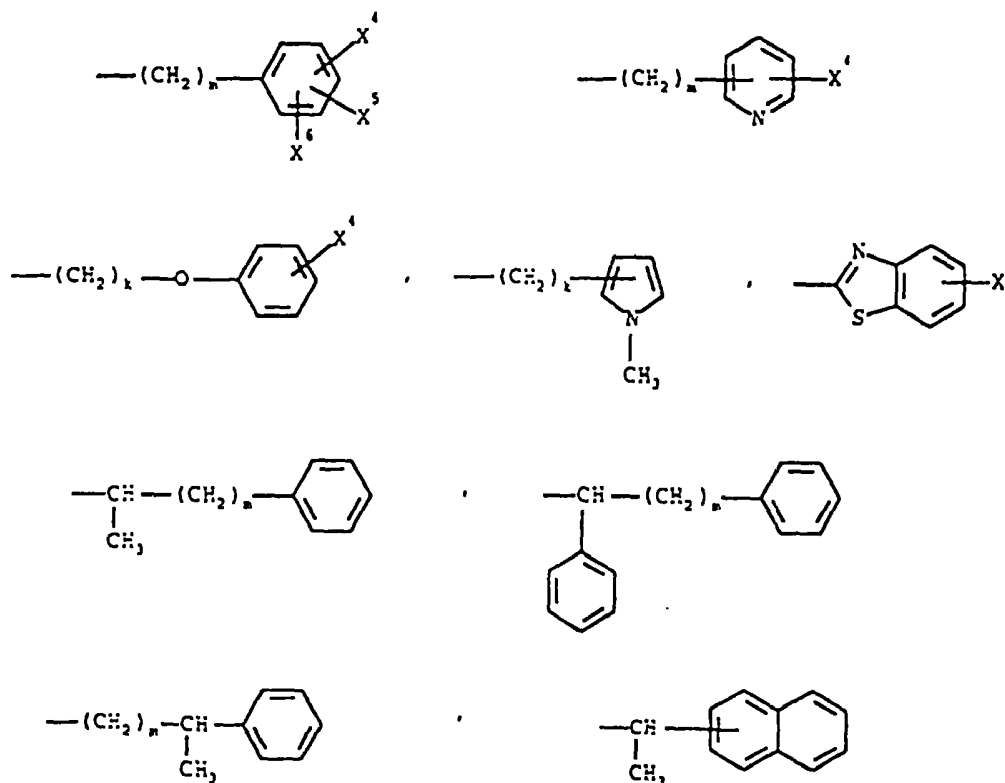
R^1 a R^2 sú rovnaké alebo od seba rozdielne, a znamenajú vodík, nerozvetvenú alebo rozvetvenú alkylovú skupinu, ktorá má od 1 do 6 atómov uhlíka,

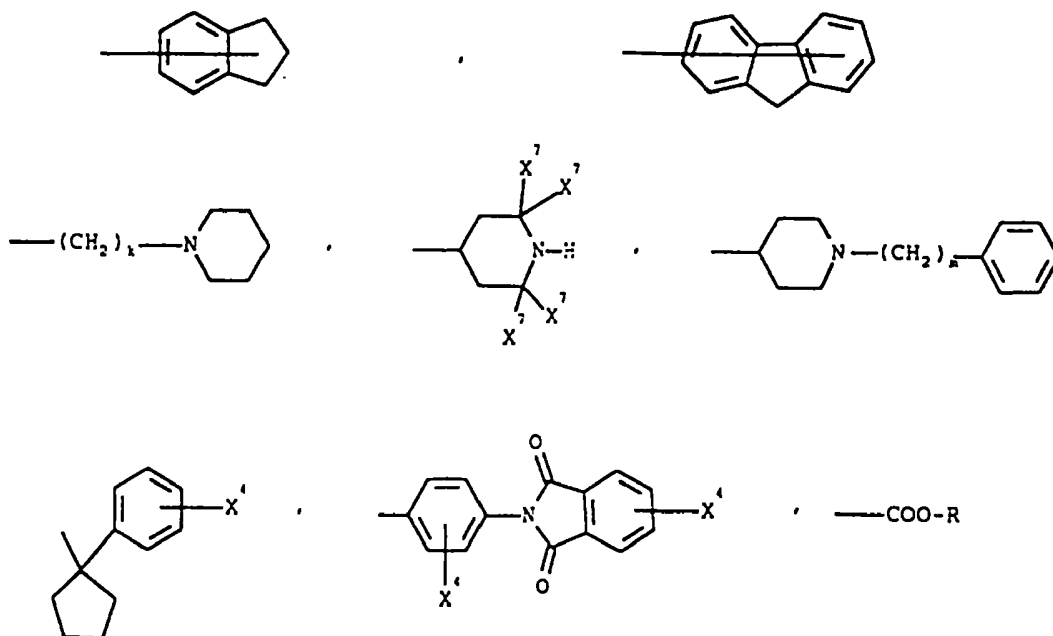
B je CH_2 , $CH_2 - CH_2$ alebo $CH = CH$,

n je 0 alebo 1,

Z je vodík, nerozvetvená alebo rozvetvená alkylová skupina, ktorá má od 1 do 8 atómov uhlíka, acylová skupina $R^3 - CO$, kde R^3 je alkylová skupina, ktorá má od 1 do 4 atómov uhlíka, perfluóralkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka,

A je vodík, $CH_2 - CH = CH_2$, nerozvetvená alebo rozvetvená alebo cyklická alkylová skupina, ktorá má 1 až 8 atómov uhlíka, alebo je vybraná z nasledujúcich skupín:





kde

k je celé číslo od 2 po 4, m je 0 alebo celé číslo od 1 po 5,

X^4 , X^5 , X^6 sú rovnaké alebo rozdielne od seba a znamenajú vodík, nerozvetvenú alebo rozvetvenú alkylovú alebo alkoxylovú skupinu, ktorá má od 1 po 8 atómov uhlíka, skupinu hydroxy, trifluórmetylovú, nitro, amino, dimetylamino, dietyl-amino skupinu, halogénový atóm (F, Cl, Br, J), X^4 a X^5 môžu vytvárať alkyldiéndioxy-kruh, ktorý má od 1 po 4 atómy uhlíka,

X^7 je vodík alebo CH_3 ,

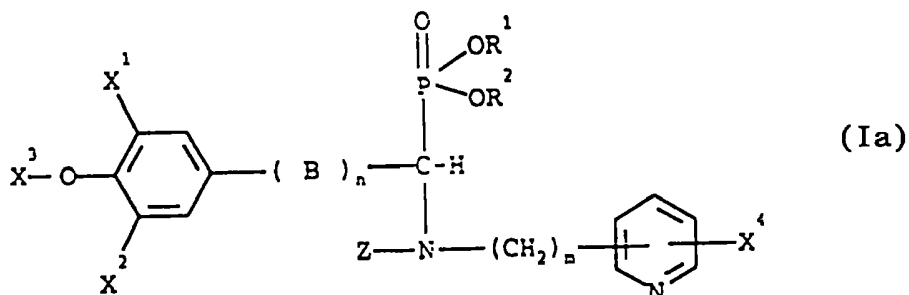
R je nerozvetvená alebo rozvetvená alkylová skupina, ktorá má od 1 po 6 atómov uhlíka, arylová alebo aralkylová skupina s 6 až 9 atómami uhlíka;

alebo jej farmaceuticky prípustné soli,

na výrobu liečiv na zníženie lipoproteínu (a) v plazme a tkanivách.

Prihláška Európskeho patentu EP 0 559 079 A (1993) [zodpovedajúca patentu USA číslo 5 424 303] zverejňuje zlúčeniny so vzorcom (I) ako aj ich použitie na znižovanie cholesterolu v plazme a krvných peroxidov.

Výhodné zlúčeniny so vzorcom (I) na použitie na výrobu liečiva na znižovanie hladiny lipoproteínu (a) v plazme a tkanivách sú tie, ktoré majú vzorec (Ia):



kde

B, R¹, R², X¹, X², X³, X⁴, Z, n a m sú určené rovnako ako hore,

alebo ich farmaceuticky prijateľné soli.

Niektoré zlúčeniny v rámci vzorca (Ia) sú nové a sú osobitne výhodné na znižovanie lipoproteínu (a) v plazme a tkanivách.

Z ďalšieho hľadiska tento vynález predkladá aminofosfonátové deriváty so vzorcom (Ia), v ktorom:

X¹ je vodík, C₍₁₋₈₎alkyl, alebo C₍₁₋₈₎alkoxy;

X² je vodík, C₍₁₋₈₎alkyl, alebo C₍₁₋₈₎alkoxy;

X³ je vodík, C₍₋₄₎alkyl, alebo X³O a jeden z dvoch substituentov X¹ alebo X² môže vytvárať alkyldénoxy- kruh, ktorý má 1 až 4 uhlíkové atómy;

R¹ a R² môžu byť rovnaké alebo od seba rozdielne a znamenajú H alebo C₍₁₋₆₎alkyl;

B je CH₂, CH₂ - CH₂ alebo CH = CH;

n je 0 alebo 1;

Z je vodík, alebo C₍₁₋₈₎alkyl;

m je celé číslo od 0 po 5;

X⁴ je vodík, C₍₁₋₈₎alkyl, alebo C₍₁₋₈₎alkoxy, alebo halogén;

a pyridylový kruh je pripojený cez α- alebo β- uhlíkový atóm kruhu k dusíku (2- alebo 3- pyridyl);

alebo jej soľ, s výhodou jej farmaceuticky prijateľnú soľ a s vylúčením zlúčenín:

dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pikolyl)-aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)-aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-metyl-N-(3-pikolyl)-aminometylfosfonát,

• dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridyl-etyl)-aminometylfosfonát, a

• dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)-aminometylfosfonát.

Vhodné X^1 je vodík, $C_{(1-4)}$ alkyl alebo $C_{(1-4)}$ alkoxy, s výhodou $C_{(1-3)}$ alkyl, alebo $C_{(1-3)}$ alkoxy, výhodnejšie vodík, metyl alebo metoxy.

Vhodné X^2 je $C_{(1-4)}$ alkyl alebo $C_{(1-4)}$ alkoxy, s výhodou $C_{(1-3)}$ alkyl, alebo $C_{(1-3)}$ alkoxy, výhodnejšie metyl alebo metoxy.

Vhodné je, ak X^1 a X^2 sú obidva alkoxy, alebo jeden z X^1 a X^2 je alkyl a druhý je alkoxy, alebo jeden z X^1 a X^2 je $C_{(1-4)}$ alkyl a druhý z X^1 a X^2 je $C_{(1-3)}$ alkyl.

Vhodné kombinácie X^1 a X^2 zahŕňajú metoxy a metoxy, metoxy a metyl, n-propyl alebo izo-butyl, metyl a metyl alebo t-butyl.

X^3 je s výhodou vodík.

(B)_n je výhodne priama väzba.

• S výhodou R^1 a R^2 je každé $C_{(1-3)}$ alkylová skupina, výhodnejšie C_2 alebo C_3 alkylová skupina, bližšie, R^1 a R^2 je etyl alebo izopropyl.

Z je s výhodou vodík.

X^4 je s výhodou vodík alebo metyl, ktorý je s výhodou viazaný na uhlíku kruhu v susedstve dusíka.

Pyridylový kruh je s výhodou pripojený uhlíkom v polohe β k dusíku (3-pyridyl).

V tomto texte používané výrazy "alkyl" alebo "alkoxy" zahŕňajú nerozvetvené ako aj rozvetvené skupiny, napríklad

metyl, etyl, n-propyl, izo-propyl, n-butyl, izo-butyl, s-butyl, t-butyl a ďalšie.

Výhodné zlúčeniny, ktoré majú vzorec (Ia) zahŕňajú:
diizopropyl- α -(4-hydroxy-3-metoxi-5-metylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,
diizopropyl- α -(3,5-dimetoxi-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,
dietyl- α -(3-metyl-4-hydroxy-5-t-butylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,
dietyl- α -(3,5-dimetoxi-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát, a
dietyl- α -(3,5-dimetyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát.

Nezávisle od doteraz zverejnených prác sa tento vynález týka neočakávaného odhalenia, že aminofosfonátové deriváty, ktoré majú vzorec (I) sú účinné pri znižovaní produkcie Lp(a) primárnymi kultúrami hepatocytov opice Cynomolgus. Lp(a) týchto primátov má podobné imunologické vlastnosti ako ľudský Lp(a) a nachádza sa v plazme v takmer rovnakom frekvenčnom rozdelení koncentrácií ako u človeka; pozri napríklad: Azrolan N., Gavish D., a Breslow J., J. Biol. Chem. 226, 13866 až 13872 (1991).

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sú preto potenciálne užitočné na znižovanie Lp(a) u človeka a tak sú terapeuticky výhodné.

Podrobnejšie, tento vynález poskytuje nové terapeutické použitie aminofosfonátových zlúčenín, ktoré majú vzorec (I), ako látok znižujúcich Lp(a). Choroby spojené so zvýšenými hladinami lipoproteínu (a) v plazme a tkanivách zahŕňajú, napríklad, koronárne srdcové choroby, ochorenie periférnych tepien, prechodné krívanie, trombózu, restenózu po angioplastii, extrakraniálnu aterosklerózu krčníc, porážku a aterosklerózu vznikajúcu po transplantácii srdca. V poslednom období odhalená účinnosť aminofosfonátov, ktoré majú vzorec (I), na znižovanie hladiny Lp(a) je nezávisle zistená od

predchádzajúcich správ o ich farmakologických účinkoch pri znižovaní cholesterolu v plazme a krvných peroxidov. Nedávne klinické štúdie ukázali, že ani hypocholesterolemické liečivo pravastín, ani antioxidačné liečivo probucol nemôžu znížiť hladinu Lp(a) u človeka. Pozri napríklad: Fieseler H. G., Armstrong V. W., Wieland E., Thiery J., Schütz E., Valli A. K. a Seidel D.: Serum Lp(a) Concentrations are Unaffected by Treatment with the HMG-CoA Reductase Inhibitor Pravastatin: Results of 2-Year Investigation, Clinica Chimica Acta 204, 291 až 300 (1991); a Noma A.: Lack of Effect of probucol on Serum Lipoprotein(a) Levels, Atherosclerosis 79, 267 až 269 (1989).

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sa budú na terapeutické účely vo všeobecnosti podávať v štandardných farmaceutických kompozíciách, získaných zmiešaním s farmaceutickým nosičom, vybraným s ohľadom na zamýšľaný spôsob podávania a bežnú farmaceutickú prax. Zlúčeniny podľa tohto vynálezu môžu byť podávané napríklad orálne vo forme tabliet, obsahujúcich nosič, ako je škrob alebo laktóza, alebo vo forme kapsúl, pastiliek buď samotné alebo v zmesi s ďalšími zložkami kompozície, alebo vo forme elixírov alebo suspenzií, obsahujúcich chuťové, vonné alebo farbiace zložky. Tieto môžu byť podávané injekčne parenterálne, napríklad intravenózne, intramuskulárne alebo subkutánne. Na parenterálne podávanie sa najlepšie použijú vo forme sterilného vodného roztoku, ktorý môže obsahovať ďalšie látky, napríklad vhodné množstvo solí alebo glukózy na nastavenie izotonicity roztoku vzhľadom na krv. Výber liekovej formy na podávanie ako aj účinné dávkovanie bude závisieť, *inter alia*, na stave, ktorý sa má liečiť. Voľba spôsobu podávania a dávkovanie vyplýva zo skúseností v danom odbore.

Zlúčeniny so štruktúrou (I) a ich farmaceuticky prípustné soli, ktoré sú účinné, ak sa podávajú orálne, môžu sa formulovať ako kvapaliny, napríklad sirupy, suspenzie alebo emulzie, alebo ako tuhé látky, napríklad tablety, kapsuly a pastilky. Tekuté formulácie budú vo všeobecnosti pozostávať zo suspenzie alebo roztoku zlúčeniny, alebo jej farma-

ceuticky prijateľnej soli vo vhodnom kvapalnom nosiči (nosičoch), napríklad v etanole, glycerole, nevodných rozpúšťadlách, napríklad v polyetylén glykole, olejoch, alebo vo vode s dispergačnou, konzervačnou, chuťovou alebo farbiacou prísadou.

Kompozícia v liekovej forme tabliet sa môže pripraviť s použitím ktoréhokoľvek vhodného farmaceutického nosiča (nosičov), ktoré sa bežne používajú na prípravu tuhých formulácií. Príklady takých nosičov zahŕňajú stearan horečnatý, škrob, laktózu, sacharózu a celulózu.

Kompozícia vo forme kapsúl sa môže pripraviť použitím bežných enkapsulačných technológií. Pelety s obsahom účinnej zložky sa môžu pripravovať napríklad použitím bežných farmaceutických nosičov a potom sa môžu plniť do kapsúl z tvrdej želatíny; voliteľne sa môžu pripravovať disperzie alebo suspenzie s použitím bežných nosičov, napríklad vodných roztokov gúm, celulóz, kremičitanov alebo olejov a disperzia alebo suspenzia sa potom môže plniť do mäkkých želatínových kapsúl.

Typické parenterálne kompozície obsahujú roztok alebo suspenziu účinnej zlúčeniny alebo jej farmaceuticky prípustnej soli v sterilnom vodnom nosiči, alebo v parenterálne prípustnom oleji, napríklad v polyetylén glykole, polyvinylpyrolidíne, lecitíne, arašidovom oleji alebo v sezamovom oleji. Voliteľne sa roztok môže lyofilizovať a potom spätne pripraviť s vhodným rozpúšťadlom tesne pred použitím.

Typické čapíkové formulácie obsahujú zlúčeninu, ktorá má štruktúru (I), alebo jej farmaceuticky prípustnú soľ, ktorá je účinná, ak sa podáva uvedeným spôsobom, so spojivovou a/alebo lubrikačnou látkou, ako sú polymérne glykoly, želatíny alebo kakaové maslo, alebo iné rastlinné alebo syntetické vosky alebo tuky, ktoré majú nízke teploty topenia.

Výhodná kompozícia je taká, ktorá obsahuje jednotkovú dávku v tablete alebo kapsule.

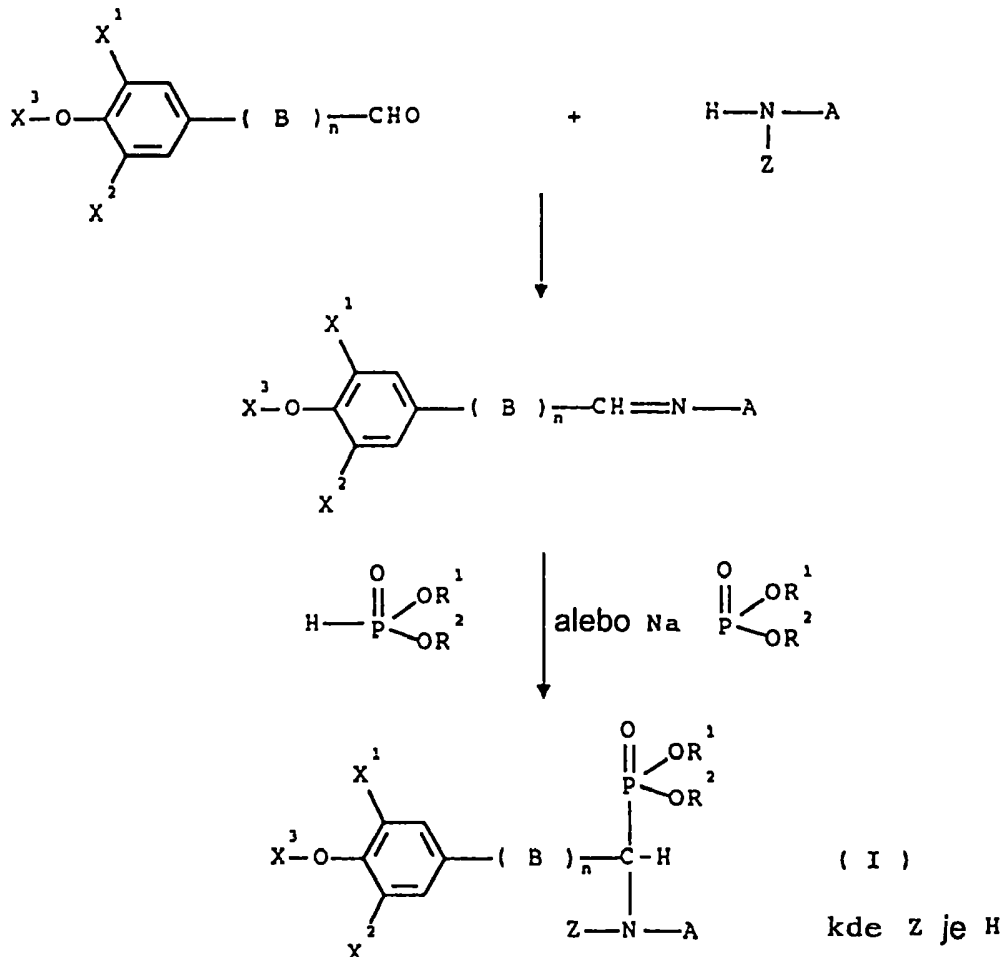
Každá jednotková dávka na orálne podávanie obsahuje s výhodou od 1 do 250 mg (a na parenterálne podávanie obsahuje s výhodou od 0,1 do 25 mg) zlúčeniny so štruktúrou (I),

alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, počítané na voľnú bázu.

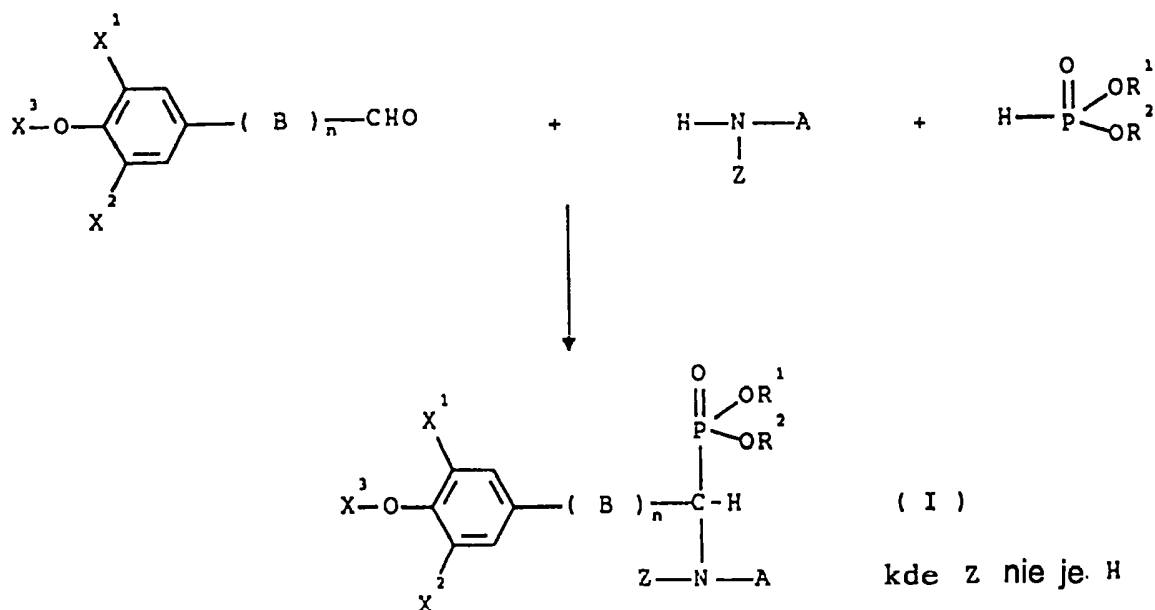
Farmaceuticky prijateľné zlúčeniny podľa tohto vynálezu budú normálne podávané subjektu v dennom dávkovom režime. U dospelých pacientov to môže byť, napríklad, orálna dávka medzi 1 mg a 500 mg, výhodne medzi 1 mg a 250 mg, alebo intravenózna, subkutánna alebo intramuskulárna dávka medzi 0,1 a 100 mg, s výhodou medzi 0,1 mg a 25 mg zlúčeniny, ktorá má štruktúru podľa vzorca (I), alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, počítané na voľnú bázu; zlúčenina sa podáva 1 až 4 krát denne.

Zlúčeniny so vzorcom (I) sa môžu pripraviť spôsobom, opísaným v prihláške Európskeho patentu EP 0 559 079 A (1993) [zodpovedajúca patentu USA 5 424 303]. Uvedený spôsob má dva varianty a je znázornený nasledujúcou všeobecnou schémou:

Variant 1



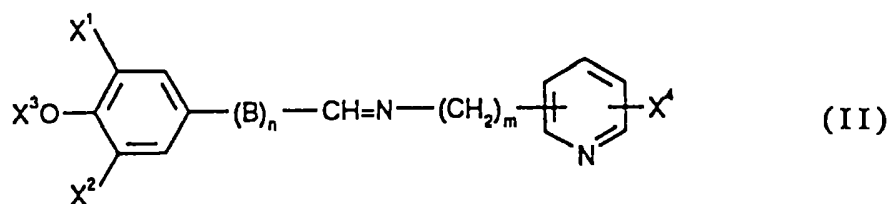
Variant 2



Variant 1 sa použije, keď Z je vodík, to znamená, keď východisková zlúčenina je primárny amín. Skrátene, aminofosfonáty so vzorcom (I) sa pripravujú nukleofilnou adíciou dialkylfosfitu alebo jeho sodnej soli, vytvorenej *in situ* reakciou dialkylfosfitu a hydridu sodného, na imín, získaný kondenzáciou príslušného aldehydu a primárneho amínu.

Variant 2 sa použije, keď Z nie je vodík, to znamená, že východisková zlúčenina je sekundárny amín. V tomto prípade sa aminofosfonát so vzorcom (I) pripraví reakciou ekvimolových množstiev príslušného aldehydu, sekundárneho amínu a dialkylfosfitu. Reakcia sa s výhodou uskutoční za prítomnosti p-toluénsulfónovej kyseliny ako katalyzátora, v uhlíkovodíkovom rozpúšťadle, ako je benzén alebo toluén za súčasného oddelovania vody, napríklad, použitím aparatury podľa Deana-Starka.

Nové zlúčeniny, ktoré majú vzorec (I), v ktorom Z znamená vodík, sa môžu pripraviť spôsobom, ktorý zahŕňa pôsobenie imínu, ktorý má vzorec (II):



v ktorom

B, X^1 , X^2 , X^3 , X^4 , m a n sú určené rovnako ako hore;
s fosfitovou zlúčeninou, ktorá má vzorec (III):

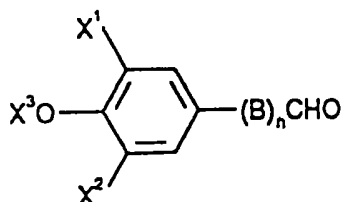


v ktorom

R^1 a R^2 sú rovnako určené ako hore, alebo ich trialkylsilylové deriváty, výhodne trimethylsilylfosfit, alebo jeho kovová soľ, napríklad sodná soľ, vytvorená *in situ* účinkom zlúčeniny so vzorcom (III) na vhodnú bázu, napríklad na hydrid sodný, na etoxid alebo metoxid sodný.

Reakcia sa môže vykonať za prítomnosti alebo bez prítomnosti katalyzátora. Vhodné katalyzátory zahŕňajú amín, ako je dietylamín alebo trietylamín. Reakcia sa môže vykonať za prítomnosti alebo bez prítomnosti rozpúšťadla. Vhodné rozpúšťadla zahŕňajú petroléter, benzén, toluén, dietyléter, tetrahydrofurán, 1,2-dimetoxyetán. Vhodné reakčné teploty sú v rozmedzí 30 až 140 °C.

Uvedená imínová zlúčenina, ktorá má vzorec (II) sa môže získať kondenzáciou aldehydovej zlúčeniny so vzorcom (V)



v ktorom

B, X^1 , X^2 , X^3 a n sú rovnako určené, ako hore;
s primárnym amínom, ktorý má vzorec (VI):



v ktorom

A je určené rovnako ako hore:

v podmienkach vhodných na tvorbu imínov.

Kondenzácia sa môže vhodne uskutočniť s alebo bez katalyzátora v rozpúšťadle ako je éter, tetrahydrofurán, benzén, toluén alebo etanol. Vhodné katalyzátory zahŕňajú molekulové sito, kyselinu, ako je ľadová kyselina octová, p-toluénsulfónová kyselina, tionylchlorid, chlorid titaničitý, éterát fluoridu bóritého, alebo zásady, ako je uhličitán draselný. Reakcia sa vhodne vykoná pri teplote v rozsahu 0 °C až po teplotu varu použitého rozpúšťadla. Pri použití menej reaktívnych aminor/aldehydov sa môže reakcia s výhodou uskutočniť v aparatuře podľa Deana-Starka.

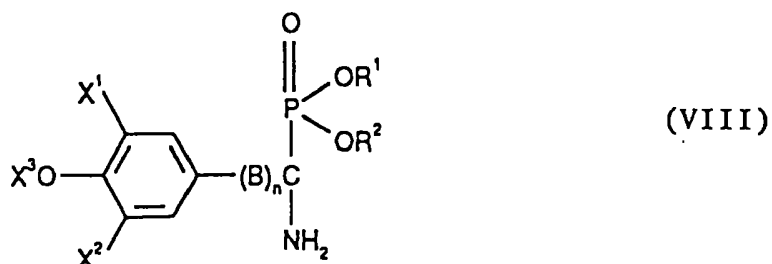
Nové zlúčeniny, ktoré majú vzorec (Ia), v ktorom Z nie je vodík sa môžu pripraviť spôsobom, ktorý zahŕňa reakciu ekvimolových množstiev aldehydu, ktorý má vzorec (V) a sekundárneho amínu, ktorý má vzorec (VII):



v ktorom

Z je C₍₁₋₈₎alkylová skupina a A je určené rovnako ako hore; a fosfitu, ktorý má vzorec (III), vhodne za prítomnosti kyseliny p-toluénsulfónovej ako katalyzátora, v uhľovodíkovom rozpúšťadle, ako je petroléter, benzén, toluén, alebo xylén pri teplotách medzi teplotou okolia a teplotou varu použitého rozpúšťadla a za súčasného odlučovania vody, napríklad použitím aparatury podľa Deana-Starka.

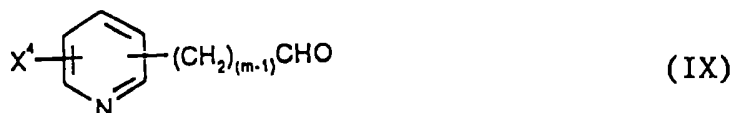
Zlúčeniny so vzorcom (Ia), v ktorých m nie je 0 sa môžu pripraviť tiež spôsobom, ktorý zahŕňa reakciu zlúčeniny so vzorcom (VIII):



v ktorom

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n sú rovnako určené ako hore;

s aldehydom, ktorý má vzorec (IX):



v ktorom

m je celé číslo od 1 po 5 a X⁴ je určené rovnako ako hore;

v podmienkach vhodných na redukčnú amináciu.

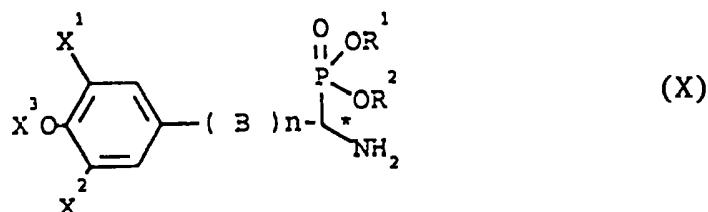
Uvedené vhodné podmienky zahŕňajú uskutočnenie reakcie za prítomnosti kyánbórhydridu sodného v alkoholovom rozpúšťadle, s výhodou v prostredí metanolu, pri pH medzi hodnotami 3 až 6 a pri teplotách medzi 0 °C a 25 °C.

Zlúčenina, ktorá má vzorec (VIII) sa môže získať spôsobom, ktorý už bol opísaný hore pre zlúčeninu (Ia), z aldehydu so vzorcom (V), sekundárneho amínu so vzorcom (VII), v ktorom Z je ochranná skupina, ktorá sa môže odstrániť hydrogenolýzou, napríklad α-substituovaný benzyl alebo benzyl-oxykarbonyl, a fosfitu so vzorcom (III). Tento vytvorí medziprodukt, ktorý sa potom podrobí hydrogenolýze v bežných podmienkach, čím sa získa zlúčenina so vzorcom (VIII).

Aminofosfonátový ester (I) môže svojimi aminoskupinami tvoriť soli anorganických kyselín, ako je HCl, H₂SO₄ alebo organických kyselín, ako kyselina oxálová, maleínová kyselina, sulfónové kyseliny a podobne. Príklad soli hydrochloridu aminofosfonátu (I) je v Príklade 5. Všetky takéto soli sú súčasťou tohto vynálezu.

Zlúčeniny, ktoré majú štruktúru (I) sú racemáty, keďže majú najmenej jeden chirálny stred, ktorým je uhlíkový atóm v polohe α k fosfonátovej skupine. Zlúčeniny (I) preto existujú v dvoch enantiomérnych formách. Racemické zmesi (50 % každého enantioméru) a čisté enantioméry sú zahrnuté v rozsahu tejto prihlášky vynálezu. V niektorých prípadoch sa môže vyžadovať oddelenie jednotlivých enantiomérov.

Z ďalšieho hľadiska tento vynález predkladá spôsob syntézy enantiomérov derivátov zlúčenín so vzorcom (I); spôsob zahŕňa reakciu buď (+) alebo (-) enantioméru α -substituovaného aminometylfosfonátu so vzorcom (X):



v ktorom

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n sú určené rovnako ako hore;
s aldehydom, ktorý má vzorec (XI):



v ktorom

R³ je určené rovnako ako hore;

v podmienkach, vhodných na redukčnú amináciu.

Uvedené vhodné podmienky zahŕňajú uskutočnenie reakcie za prítomnosti kyánbórhydridu sodného v alkoholovom rozpúšťadle, s výhodou v prostredí metanolu, pri pH medzi hodnotami 3 až 6 a pri teplotách medzi 0 °C a 25 °C.

Kľúčový α -substituovaný primárny aminometylfosfonát, ktorý má vzorec (X) sa získa reakciou aldehydu, ktorý má vzorec (V), ako bol určený hore, s (+) alebo (-) α -metylbenzylamínom za vzniku medziproduktu imínu, ktorý potom reaguje s fosfitovým esterom HPO(OR¹)(OR²). Vzniká zmes diastereoizomérov, ktoré sa môžu oddeliť bežnými spôsobmi, napríklad frakčnou kryštalizáciou alebo chromatograficky. Potom sa môže použiť hydrogenolýza na odstránenie benzylovej skupiny z dusíka, čím vznikne α -substituovaný primárny aminometylfosfonát, ktorý má vzorec (X). Tento prístup je bližšie opísaný pri príprave enantiomérov zlúčeniny číslo 7 a 15 z Tabuľky I. Oddelenie aminofosfonátových racemátov sa môže voľiteľne vykonať preparatívnou chirálnou chromatografiou,

bližšie chirálnou HPLC. Experimentálne podmienky pre chromatografické delenie enantiomérov sa uvádzajú u zlúčeniny číslo 20. Pri každom spôsobe separácie sa výsledná čistota enantiomérov môže zabezpečiť meraním špecifických rotácií separovaných izomérov.

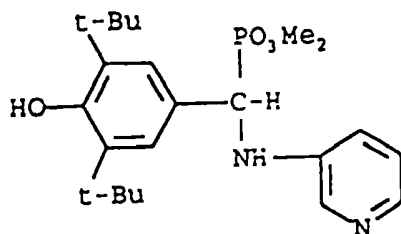
Štruktúra zlúčenín so vzorcom (I) sa určila pomocou elementárnej analýzy a z infračervených (IČ) spektier, hmotnostných spektier (MS) a zo spektier jadrovej magnetickej rezonancie (NMR). Čistota zlúčenín sa skúšala chromatografiou v tenkej vrstve, plynovou kvapalinovou chromatografiou a vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC).

V ďalšej časti sa vynález opisuje nasledujúcimi príkladmi, ktoré majú bližšie ozrejmiť vynález bez jeho obmedzenia. V tabuľkách: n znamená normálny, i znamená izo, s znamená sekundárny a t znamená terciárny. V opisoch NMR spektier znamená s singlet, d dublet, t triplet a m multiplet. TsOH je monohydrát p-toluénsulfónovej kyseliny. Teplota sa udáva v stupňoch Celsia a teplota topenia nie je korigovaná. Pri meraní optickej aktivity sa označuje enantiomér, ktorý otáča rovinu polarizovaného svetla vpravo ako pravotočivý a je označený (+) alebo (D). Obrátene, výraz ľavotočivý znamená enantiomér, ktorý otáča rovinu polarizovaného svetla vľavo, označuje sa (-) alebo (L). Pokiaľ sa neuvádza inak, uvádzané fyzikálne konštanty a biologické údaje aminofosfonátov, ktoré majú vzorec (I) sa vzťahujú na racemáty.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Dimetyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát



Zmes 50 g (0,206 molu) 3,5-di-terc-butyl-4-hydroxybenzaldehydu a 20,3 g (0,216 molu) 3-aminopyridínu, rozpustená v 300 ml toluénu a katalytické množstvo kyseliny p-toluénsulfónovej (asi 50 mg) sa v nádobe, pripojenej k aparátúre podľa Deana-Starka, refluxovala po dobu 17 hodín. Roztok sa potom odparil do sucha, čím sa získala tuhá látka, ktorá sa čistila rekryštalizáciou z ligroínu. Teplota topenia produktu bola 125 až 130 °C.

IČ (KBr): 1 590 cm^{-1} : CH=N.

K 60 g (0,19 molu) imínu, pripraveného predchádzajúcim postupom, rozpusteného v 230 ml THF sa pridal dimetylfosfit (63,8 g, 0,58 molu) a zmes sa zahrievala pri teplote refluxu po dobu 6 hodín. Rozpúšťadlo sa potom odparilo a zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou (SiO_2 , 9/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$). Rekryštalizáciou zo zmesi metyl-terc-butyléteru/petroléteru sa získala biela tuhá látka s teplotou topenia 168 až 170 °C.

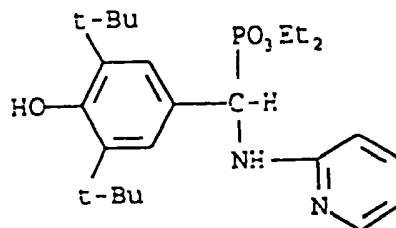
IČ (KBr): 3 300 cm^{-1} : NH, 1 240: P = O, 1 030: P - O - C.

NMR (CDCl_3): δ = 8.06, 7.96, 7.4 a 6.9 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 7.2 (d, $J_{\text{P-H}} = 2$ Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5.24 (s, 1H) OH, 4.66 (d, $J_{\text{P-H}} = 22$ Hz, 1H): CH- PO_3Me_2 , 4.75 - 4.68 (m, 1H): NH, 3.74 a 3.39 = (dva d, $J = 11$ Hz): P - O - CH_3 , 1.42 (s, 18 H): terc-Bu.

MS: m/e = 419: $\text{M}^+ - 1$, 311 (100 %): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Me}_2$.

Príklad 2

Dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridyl)-aminometylfosfonát



Spôsob prípravy, opísaný v Príklade 1 sa použil tiež v tomto príklade s tým, že sa vychádzalo z 2-aminopyridínu

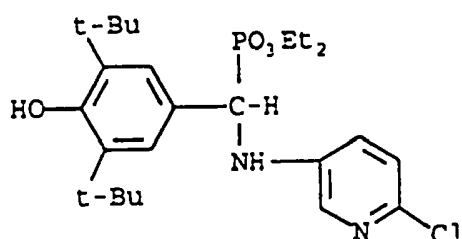
ako amínu a z dietylfosfitu ako fosfonátového činidla. V nadpise uvedená zlúčenina sa čistila stĺpcovou chromatografiou (SiO_2 , 9/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), čím sa získal tuhý produkt (61 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 116 až 118 °C (AcOEt - ligroín).

MS: $m/e = 448: \text{M}^+$, 311: $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$, 78 (100 %): $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$.

NMR (CDCl_3): $\delta = 8,09$, $7,38$ a $6,57$ a $6,44$ (4m, 1H každý): aromatický H, 2-pyridyl, $7,28$ (d, $J_{\text{P-H}} = 2$ Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, $5,46$ (dd, $J = 9$ a 22 Hz, 1H): $\text{CH} - \text{PO}_3\text{Et}_2$, $5,3$ (m, 1H): N - H, $4,14$ až $3,66$ (3m, 4H spolu): P - O - CH_2 - CH_3 , $1,42$ (s, 18 H): *terc*-Bu, $1,21$ a $1,16$ (2t, 3H každý): P - O - CH_2 - CH_3 .

Príklad 3

Dietyl- α -(3,5-di-*terc*-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-[5-(2-chlórpyridyl)]-aminometylfosfonát



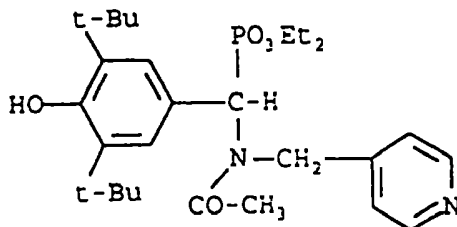
Spôsob prípravy, opísaný v Príklade 1 sa použil tiež v tomto príklade s tým, že sa vychádzalo z 5-amino-2-chlórpyridínu ako amínu a z dietylfosfitu ako fosfonátového činidla. V nadpise uvedená zlúčenina sa získala po stĺpcovej chromatografii (SiO_2 , 98/2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) a rozotieraní v petroléteri v 50%-nom výťažku s teplotou topenia 124 až 126 °C.

MS: $m/e = 483: \text{M}^+ + 1,345$ (100 %), 347 (30 %): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): $\delta = 7,78$, $7,05$ a $6,09$ (3H): aromatický H, 3-pyridyl, $7,18$ (d, $J = 2$ Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, $5,22$ (s, 1H): OH, $4,83$ (t, $J = 8$ Hz): N - H, $4,57$ (dd, $J = 7,5$ a $22,5$ Hz): $\text{CH} - \text{PO}_3\text{Et}_2$, $4,1$, $3,86$ a $3,56$ (3m, 4H): P - O - CH_2 - CH_3 , $1,40$ (s, 18 H): *terc*-Bu, $1,28$ a $1,05$ (2t, $J = 7$ Hz): P - O - CH_2 - CH_3 .

Príklad 4

Dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-acetyl-N-(4-pikolylyl)-aminometylfosfonát

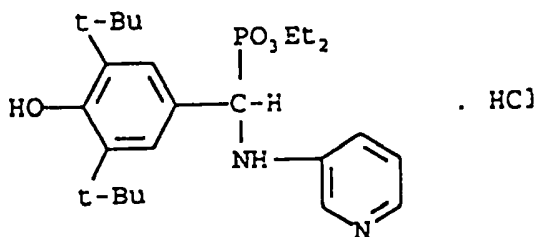


Zmes anhydridu kyseliny octovej (1,4 g, 14 mmolov), dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolylyl)-aminometylfosfonátu (6 g, 13 mmolov) a trietylamínu (1,9 ml, 14 mmolov) v 20 ml toluénu sa zahrievala pri teplote refluxu po dobu 16 hodín. Reakčná zmes sa extrahovala roztokom soli, sušila a odparila do sucha. Zvyšok sa rekryštalizoval zo zmesi dichlórmétánu a petroléteru, čím sa získalo 3,7 g (57 % teoretického výťažku) produktu s teplotou topenia 160 až 162 °C.

MS: m/e = 504: M^+ , 461: $M^+ - COCH_3$, 367: $M^+ - PO_3Et_2$, 325 (100 %): $M^{+1} - PO_3ET_2 - COCH_3$.

Príklad 5

Hydrochlorid dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonátu



Dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát (3 g, 6,7 mmolov) sa rozpustil v mierne teplom toluéne (60 ml) a vzniklý roztok sa nasýtil plynným chlorovodíkom. Po 16 hodinách pri 0 °C sa potom zmes odparila do sucha a zvyšok sa rekryštalizoval z EtOH. Produkt mal teplotu topenia 193 až 194 °C.

Elementárna analýza: $C_{24}H_{38}ClN_2O_4P$

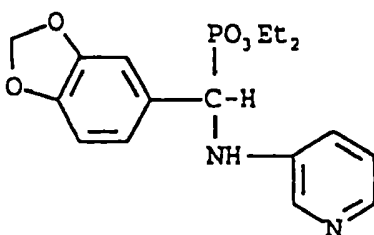
Výpočet:: 59,43 % C, 7,90 % H, 7,31 % Cl, 5,78 % N, 6,39 % P

Stanovené analýzou:

59,53 % C, 8,10 % H, 7,02 % Cl, 5,72 % N, 6,21 % P

Príklad 6

Dietyl- α -(3,4-metyléndioxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometyl-fosfonát



Syntéza sa vykonala spôsobom, ktorý sa uvádza v Príkla-de 8. V nadpise uvedená zlúčenina sa čistila stĺpcovou chro-matografiou (9/1 $CHCl_3/MeOH$). Výťažok produktu bol 60 % teo-retického výťažku a produkt mal teplotu topenia 98 až 99 °C, $C_{17}H_{21}N_2O_5P$.

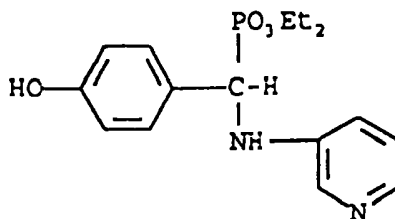
IČ (KBr): 1 240 cm^{-1} : P = O, 1 030: P - O - C.

MS: $m/e = 365 M^+ + 1$, 227 (100 %):, $M^+ - PO_3Et_2$.

NMR ($CDCl_3$): $\delta = 8,1$, 7,95, 7,05 a 6,95 (4m, 1H každý): aro-matický H, 3-pyridyl, 6,95, 6,85, 6,75 (3m, 3H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,95 (2H): -O-CH₂-O-, 4,86 (d x d, 1H, J = 8 a 10 Hz): N-H, 4,63 (d x d, 1H, J = 8 a 24 Hz): CH-PO₃Et₂, 4,18 až 3,70 (3m, 4H spolu): P-O-CH₂-CH₃, 1,31 a 1,16 (2t, J = 7 Hz): P - O - CH₂ - CH₃.

Príklad 7

Dietyl- α -(4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát



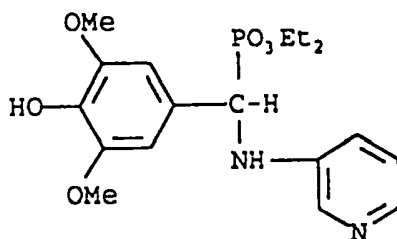
4-hydroxybenzaldehyd (6 g, 49 mmolov) sa nechal pri teplote miestnosti reagovať s 3-aminopyridínom (4,5 g, 52 mmolov) v 30 ml THF, čím sa získalo 9,9 g svetlohnedej tuhej látky. Týmto spôsobom získaný imín (5,9 g, 30 mmolov) sa rozpustil v 50 ml THF, na dvakrát sa pridal dietylfosfit. Jedna dávka sa dala na začiatku reakcie a ďalšia po 6 hodinách refluxu (celkové množstvo 8,2 g, 60 mmolov). Reakčná zmes sa zahrievala pri teplote refluxu cez noc. Vzniklá zrazenina sa odfiltrovala, čím sa získalo 7,5 g (75 % teoretického výťažku) hnedkastej tuhej látky s teplotou topenia 210 až 212 °C (EtOH).

MS: $m/e = 337 M^{++} 1, 199 (100 \%)$; $M^{+}-PO_3Et_2$.

NMR (DMSO- d_6) δ : 9,35 (s, 1H): OH, 8,15, 7,7, 7,1 a 7,0 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,5 (d x d, 1H) N - H, 7,3 a 6,7 (2m, 2H každý): aromatický vodík, 4-hydroxyfenyl, 4,93 (d x d, 1H): $\underline{CH}-PO_3Et_2$, 4,1 až 3,6 (3m, 4H spolu): P-O- $\underline{CH_2}-CH_3$, 1,15 a 1,02 (2t, 3H každý): P-O- $\underline{CH_2}-\underline{CH_3}$.

Príklad 8

Dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát



Zmes 3,5-dimetoxy-4-hydroxybenzaldehydu (3 g, 16,4 mmolu) a 1,63 g (17,3 mmolu) 3-aminopyridínu, rozpustené v 10 ml toluénu a katalytického množstva p-toluénsulfónovej kyseliny (asi 5 mg) sa zahrievala pri teplote refluxu v nádobe spojenej s Deanovou-Starkovou aparaturou po dobu 17 hodín. Roztok sa potom odparil do sucha, čím sa získalo 4,2 g (100 % teoretického výťažku) surového imínu. K pripravenému imínu (4,2 g, 17,3 mmolu) v predchádzajúcej operácii, rozpustenému v 10 ml THF sa pridal dietylfosfit (4,8 g, 35 mmolov). Zmes

sa zahrievala pri teplote refluxu po dobu 7 hodín. Potom sa pridala ďalší podiel dietylfosfitu (4,8 g, 35 mmolov) a zmes sa opäť zahrievala pri teplote refluxu cez noc (celková reakčná doba bola 17 hodín). Rozpúšťadlo a nadbytok dietylfosfitu sa odparili a zvyšok sa rekryštalizoval zo zmesi etanolu a dichlórmetánu, čím sa získalo 4,2 g (61 % teoretického výťažku) bielej tuhej látky s teplotou topenia 181 až 183 °C.

• IČ (KBr): 1 240 cm^{-1} : P = O a 1 030: P - O - C

MS: $m/e = 397 \text{ M}^{++} 1, 259 (100 \%)$: $\text{M}^{+} - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

• NMR (CDCl_3): $\delta = 8,08, 7,98, 7,04$ a $6,84$ (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, $6,69, (d, J = 2 \text{ Hz}, 2\text{H})$: aromatický H, substituovaný fenyl, $5,8$ (široký, 1H): OH, $4,84 (d \times d, 1\text{H}, J = 7 \text{ a } 10 \text{ Hz})$: N-H, $4,62 (d \times d, 1\text{H}, J = 7 \text{ a } 23 \text{ Hz})$: $\text{CH} - \text{PO}_3\text{Et}_2$, $4,18$ až $3,65$ (3m, 4H spolu): P-O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, $3,86$ (s, 6H): OCH_3 , $1,31$ a $1,16$ (2t, $J = 7 \text{ Hz}$): P - O - $\text{CH}_2 - \text{CH}_3$.

Elementárna analýza: $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$

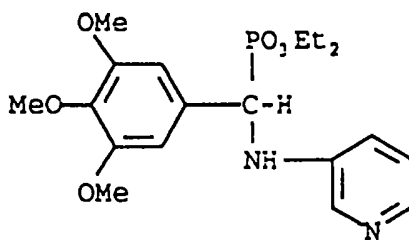
Výpočet:: 54,54 % C, 6,36 % H, 7,07 % N, 7,81 % P

Stanovené analýzou:

54,50 % C, 6,38 % H, 6,99 % N, 7,65 % P.

Príklad 9

Dimetyl- α -(3,4,5-trimetoxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometyl-fosfonát



•
Zmes 3,4,5-trimetoxybenzaldehydu (10 g, 51 mmolov), 3-aminopyridínu (4,8 g, 51 mmolov) a katalytického množstva TsOH, rozpustené v 50 ml toluénu sa zahrievala pri teplote refluxu v nádobe spojenej s Deanovou-Starkovou aparaturou po dobu 16 hodín. Roztok sa potom odparil do sucha, čím sa získalo 12,9 g (93 % teoretického výťažku) surového imínu, kto-

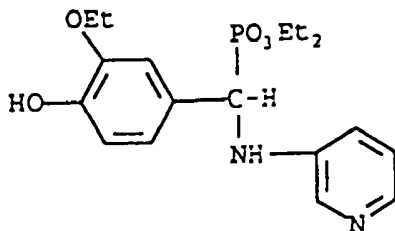
rý sa priamo použil v ďalšej reakcii. 50 ml THF, obsahujúceho zmes uvedeného imínu (6 g, 22 mmolov) a dietylfosfitu (6,1 g, pridaneho na začiatku reakcie a 6,1 g, pridaneho po 4 hodinách, spolu množstvo 12,2 g, 88 mmolov) sa zahrievalo pri teplote refluxu po dobu 8 hodín. Po odparení THF a nadbytku HPO_3Et_2 sa zvyšok rozotieral v petroléteri, čím sa získalo 7,12 g (79 % teoretického výťažku) bielej tuhej látky s teplotou topenia 135 až 137 °C.

MS: $m/e = 410 \text{ M}^+$, 273 (100 %): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): $\delta = 8,1$, $8,0$, $7,05$ a $6,85$ (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, $6,69$ a $6,68$, (d, $J = 2 \text{ Hz}$, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, $4,86$, (d x d, 1H, $J = 8$ a 10 Hz): N-H, $4,63$ (d x d, 1H, $J = 7$ a 23 Hz): $\text{CH} - \text{PO}_3\text{Et}_2$, $4,18$ až $3,70$ (3m, 4H spolu): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $3,86$ (dva s, 9 H): OCH_3 , $1,31$ a $1,16$ (2t, $J = 7 \text{ Hz}$): $\text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$.

Príklad 10

Dietyl- α -(3-etoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometyl-fosfonát



Zmes 50 ml toluénu, obsahujúceho 3-etoxy-4-hydroxybenzaldehydu (10 g, 60 mmolov), 3-aminopyridínu (5,6 g, 60 mmolov) a 50 mg TsOH sa v nádobe pripojenej na aparáturu podľa Deana-Starka zahrievala pri teplote refluxu po dobu 4 hodín, čím sa získalo 14,62 g (95 % teoretického výťažku) príslušného imínu.

K suspenzii hydridu sodného (1,19 g 60%-nej zmesi, 30 mmolov) v 20 ml suchého THF sa v ochrannej atmosfére dusíka pridal HPO_3Et_2 (9,12 g, 66 mmolov). Výsledná zmes sa miešala až sa spočiatku zakalená suspenzia celkom nevyjasnila. K tomuto roztoku NaPO_3Et_2 sa pridal hore pripravený imín (8 g, 33 mmolov), rozpustený v 10 ml THF, a výsledný roztok sa

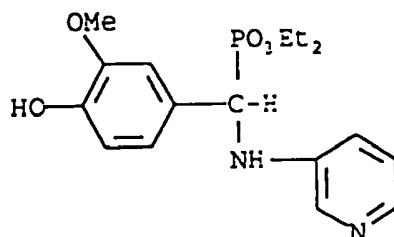
zahrieval pri teplote refluxu po dobu 2 hodín. Potom sa THF odparil a zvyšok sa rozdelil medzi vodu a CH_2Cl_2 . Následným odparením vysušenej organickej fázy sa získala biela tuhá látka (3,1 g). Produkt mal teplotu topenia 184 až 187 °C.

MS: $m/e = 380: \text{M}^+$, 243: $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (DMSO- d_6) $\delta = 8,9$ (s, 1H), 8,15, 7,3 a 6,9 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 7,1 (m, 2H), a 6,68, (d, $J = 2$ Hz, 1H): aromatický H, fenyl, 6,5 (d x d, $J = 6$ a 10 Hz): NH, 4,92, (d x d, $J = 10$ a 24 Hz): $\text{CH} - \text{PO}_3\text{Et}_2$, 4,05 až 3,6 (4m, 6H spolu): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$ a OCH_2CH_3 , 1,29 (t, $J = 7$ Hz, 3H): $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$, 1,16 a 1,04 (2t, $J = 7$ Hz, každý 3H)): P - O - CH_2 - CH_3 .

Príklad 11

Diethyl- α -(4-hydroxy-3-metoxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometyl-fosfonát



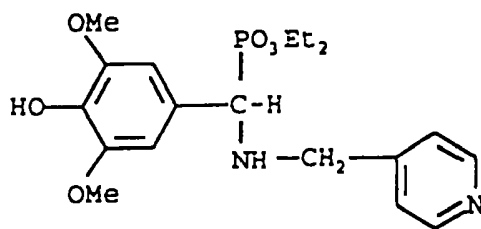
Postupovalo sa podľa spôsobu, opísaného v príklade 10 s použitím 4-hydroxy-3-metoxybenzaldehydu ako východiskovej látky. V nadpise uvedená zlúčenina sa získala ako biela tuhá látka s teplotou topenia 170 až 173 °C.

MS: $m/e = 366: \text{M}^+$, 229: $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (DMSO- d_6) $\delta = 8,9$ (s, 1H): OH, 8,15, 7,75, 7,0 a 6,9 (4m, 4H): aromatický H, 3-pyridyl, 7,1 (m, 2H), a 6,7, (d, $J = 8$ Hz, 1H): aromatický H, fenyl, 6,5 (d x d, $J = 6$ a 10 Hz): NH, 4,92, (d x d, $J = 10$ a 24 Hz): $\text{CH} - \text{PO}_3\text{Et}_2$, 4,05 až 3,6 (3m, 4H spolu): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$, 3,72 (s, 3H): OCH_3 , 1,17 a 1,04 (2t, $J = 7$ Hz, každý 6H)): P - O - CH_2 - CH_3 .

Príklad 12

Diethyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)aminometyl-fosfonát



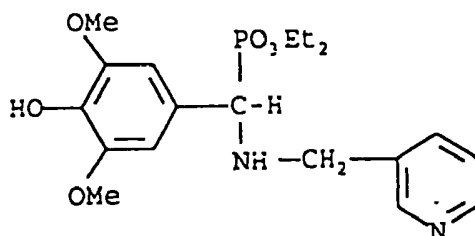
Zmes 3,5-dimetoxy-4-hydroxybenzaldehydu (13,7 mmolov) a 1,6 g (14,4 mmolu) 4-pikolylamínu, rozpustené v 100 ml toluénu sa zahrievala pri teplote refluxu po dobu 3 hodín v nádobe spojenej s Deanovou-Starkovou aparaturou. Toluén sa potom vo vákuu odparil a zvyšok sa rozpustil v 10 ml THF a roztok sa zahrieval s 5,1 g (36,8 mmolov) dietylfosfitu po dobu 6 hodín. THF sa potom odparil a zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou (SiO_2 , 95/5 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$). Rekryštalizáciou zo zmesi dichlórmetánu-petroléteru sa získalo 3,7 g (45 % teoretického výťažku) tuhej látky s teplotou topenia 124 až 126 °C.

MS: $m/e = 410$: M^+ , 273: $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): $\delta = 8,55$ a $7,22$ (2m, 1H každý): aromatický H, 4-pikolyl, $6,75$, (d, $J = 2$ Hz, 2H): aromatický H, fenyl, $4,15$ až $3,77$ (viac m, 5H): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ a $\text{CH}-\text{PO}_3\text{Et}_2$, $3,89$ (s, 6H): OCH_3 , $3,82$ a $3,62$ (2d, $J = 14$ Hz): $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{Py}$, $1,33$ a $1,16$ (2t, $J = 7$ Hz, 6H): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$.

Príklad 13

Dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)aminome-tylfosfonát



Postupovalo sa podľa spôsobu, opísaného v príklade 12 s použitím 3-pikolylamínu ako východiskovej látky. V nadpise uvedená zlúčenina sa čistila stĺpcovou chromatografiou (SiO_2 , 9/1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), čím sa získala tmavožltá olejovitá

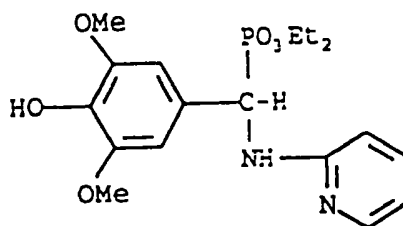
látka. Rekryštalizáciou z prostredia dichlórmétánu-petrol-éteru sa potom získala hnedkastá tuhá látka s teplotou topenia 99 až 101 °C.

MS m/e = 410: M^+ , 273 = M^+ - PO_3Et_2 .

NMR ($CDCl_3$): δ = 8,51, 8,50, 7,64 a 7,25 (4m, 4H): aromatický H, 3-pikolylyl, 6,65, (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, fenyl, 7,75 (široký, 1H): OH, 4,15 až 3,75 (viac m, 5H): P-O- $\underline{CH}_2$ - $\underline{CH}_3$ a $\underline{CH}$ - PO_3Et_2 , 3,9 (s, 6H): OCH_3 , 3,82 a 3,61 (2d, J = 14 Hz, 2H): NH- $\underline{CH}_2$ -Py, 1,31 a 1,16 (2t, J = 7 Hz, 6H): P - O - $\underline{CH}_2$ - $\underline{CH}_3$.

Príklad 14

Dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridyl)aminometylfosfonát



Zmes 3,5-dimetoxy-4-hydroxybenzaldehydu (3,64 g, 20 mmolov) a 1,88 g (20 mmolov), 2-aminopyridínu a katalytického množstva TsOH, rozpustené v 20 ml toluénu sa zahrievala pri teplote refluxu v nádobe spojenej s Deanovou-Starkovou aparaturou po dobu 24 hodín. Zmes sa potom odparila do sucha, čím sa získalo 5,2 g (100 %) surového imínu. K 3,6 g (14 mmolov) pripraveného imínu, rozpusteného v 25 ml THF sa potom pridal dietylfosfit (5,8 g, 42 mmolu). Zmes sa zahrievala pri teplote refluxu po dobu 20 hodín. Potom sa rozpúšťadlo a nadbytok dietylfosfitu odparili a zvyšok sa rekryštalizoval z etanolu. Získalo sa 4,2 g (76 % teoretického výťažku) bielej tuhej látky s teplotou topenia 163 až 165 °C. IČ (KBr) = 1 240 cm^{-1} : P = O a 1 030: P - O - C

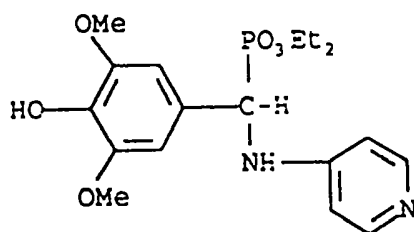
MS: m/e = 397: M^+ + 1, 259 (100 %): M^+ - PO_3Et_2 .

NMR ($CDCl_3$): δ = 8,08, 7,37, 6,60 a 6,41 (4m, 1H každý): aromatický H, 2-pyridyl, 6,76, (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,6 (s, 1H): OH, 5,39 (m, 1H): N-H,

5,37 (d x d, 1H, J = 9 a 28 Hz): $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, 4,18 až 3,69 (viac m, 4H): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$, 3,87 (s, 6H): OCH_3 , 1,24 a 1,15 (2t, J = 7 Hz, 6H): $\text{P - O - CH}_2 - \text{CH}_3$.

Príklad 15

Diethyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pyridyl)aminometylfosfonát



Zmes 3,5-dimetoxy-4-hydroxybenzaldehydu (3,64 g, 20 mmolov) a 1,9 g (20 mmolov), 4-aminopyridínu a 5 mg TsOH, rozpustená v 20 ml toluénu sa zahrieva pri teplote refluxu v nádobe spojenej s Deanovou-Starkovou aparatúrou po dobu 48 hodín. Zmes sa potom odparila do sucha, čím sa získalo 5,0 g (95 %) príslušného imínu.

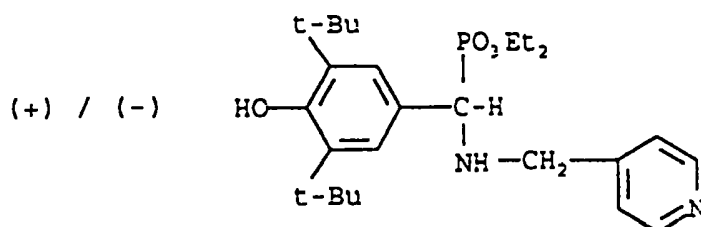
K suspenzii hydridu sodného (0,87 g 60%-nej zmesi, 20 mmolov) v 25 ml suchého THF sa v ochrannej atmosfére dusíka pridal HPO_3Et_2 (4,14 g, 30 mmolov). Zmes sa potom miešala, kým sa spočiatku zakalená suspenzia nevyjasnila. K tomuto roztoku NaPO_3Et_2 sa pridal hore pripravený imín (2,6 g, 10 mmolov), rozpustený v 5 ml THF a výsledný roztok sa zahrieva pri teplote refluxu po dobu 2 hodín. THF sa odparil a zvyšok sa rozdelil medzi vodu a dichlórmetán. Odparením organickej fázy sa získala biela tuhá látka, ktorá sa rekrystalizovala z prostredia EtOH (1,84 g, 48 % teoretického výťažku). Produkt mal teplotu topenia 172 až 174 °C.

MS: $m/e = 396: \text{M}^+$, 259 (100 %): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): $\delta = 8,18$, $8,16$, $6,48$ a $6,46$ (4m, 1H každý): aromatický H, 4-pyridyl, $6,67$, (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, $5,27$ (d x d, 1H, J = 7 a 10 Hz): N-H, $4,66$ (d x d, 1H, J = 7 a 23 Hz): $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, 4,18 až 3,60 (3m, 4H spolu): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$, 1,30 a 1,15 (2t, J = 7 Hz): $\text{P - O - CH}_2 - \text{CH}_3$.

Príklad 16

Enantioméry dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikoly)l)-aminometylfosfonátu



a) 3,5-Di-terc-butyl-4-hydroxybenzaldehyd (30 g, 123,5 mmolov) a (R)-(+)-1-fenyl-etylamin (15,7 g, 129,7 mmolov) sa jeden deň miešal v 100 ml tetrahydrofuránu. Roztok sa potom sušil s MgSO_4 a skoncentroval sa. Príslušný imín sa rekryštalizoval z prostredia ligroínu a získal sa produkt (38 g, 88 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 127 až 128 °C. Uvedený imín (30 g, 89 mmolov) a dietylfosfit (15,4 g, 111,3 mmolov) sa v 80 ml toluénu zahrievali pri teplote refluxu po dobu 5 hodín. Potom sa zmes odparila do sucha. Pomocou HPLC zvyšku sa preukázalo, že zvyšok je prevážne tvorený jedným diastereomérom (84 % ku 3 % reakčnej zmesi). Prevládajúci diastereomér dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(1-fenyl-etyl)-aminometylfosfonátu sa izoloval postupnými kryštalizáciami (10 g) $[\alpha]_D^{27} = +8,33^\circ$ ($c = 1,649$, CHCl_3); teplota topenia produktu bola 105 až 106 °C.

(+)-Dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(1-fenyletyl)-aminometylfosfonát (9,5 g, 20 mmolov) sa v prostredí etanolu hydrogenoval za prítomnosti 2,5 g 10 %-ného paládia na aktívnom uhlí, čím sa získal (-)-dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-aminometylfosfonát (5,6 g, 76 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 143 až 145 °C (rekryštalizovaný z prostredia ligroínu-dichlórmétánu). $[\alpha]_D^{22} = -12,12^\circ$ ($c = 1,650$, CHCl_3).

(-)-Dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)aminometylfosfonát (11 g, 29,6 mmolov) a pyridín-4-karboxaldehyd (6,3 g, 59,3 mmolu) sa rozpustili v 125 ml MeOH. Zmes sa okyslila koncentrovanou HCl (na indikátor brómfenolová mod-

rá). Po polhodine miešania pri teplote miestnosti sa pridal NaBH_3CN (5,6 g, 89 mmolov), rozpustený v 30 ml MeOH. pH roztoku sa opäť upravilo s HCl. Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti po dobu 4 hodín a potom sa odparila do sucha. Zvyšok sa extrahoval s dichlórmetánom a vodou. Organická fáza sa sušila nad MgSO_4 a odparila. Zvyšok sa delil stĺpcovou chromatografiou (SiO_2 , 95/5 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), čím sa získal (-)-dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)-aminometylfosfonát (11 g, 80 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 66 až 69 °C.

$[\alpha]_D^{21} = -44,05^\circ$ ($c = 1,992$, CHCl_3);

b) 3,5-Di-terc-butyl-4-hydroxybenzaldehyd (30 g, 123,5 mmolov) a (S)-(-)-1-fenyletylamín (15,7 g, 129,7 mmolov) sa miešali v 100 ml tetrahydrofuránu jeden deň, čím sa získal príslušný imín (36,5 g, 88 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 127 až 128 °C.

Pripravený imín (20 g, 59,3 mmolov) s dietylfosfitom (10,2 g, 74,2 mmolov) sa zahrievali pri teplote refluxu v 60 ml toluénu po dobu 7 hodín. Potom sa zmes odparila do sucha. Pomocou HPLC sa preukázalo, že zvyšok obsahuje popri východiskových látkach diasteroméry v pomere 60 ku 40 %. Zvyšky východiskových látok sa odstránili stĺpcovou chromatografiou na silikagéli (98/2 dichlórmetán-MeOH). Podiely s obsahom diasteromérov sa odparili do sucha a trikrát rekryštalizovali z prostredia ligroínu/MTBE, čím sa získal prevládajúci diastereomér dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(1-fenyletyl)aminometylfosfonátu (12 g) s teplotou topenia 104 až 105 °C.

$[\alpha]_D^{28} = -10,53^\circ$ ($c = 1,643$, CHCl_3);

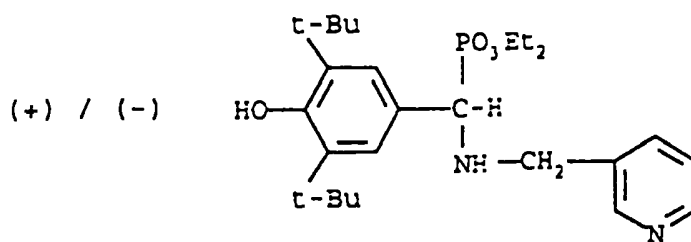
(-)-Dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(1-fenyletyl)-aminometylfosfonát (42 g, 88,4 mmolov) sa hydrogenoval v prostredí etanolu za prítomnosti 6 g 10 %-ného paládia na aktívnom uhlí, čím sa získal (+)-dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-aminometyl-fosfonát (24,5 g, 75 % teoretického výťažku), ktorý mal (po rekryštalizácii z prostredia ligroínu/MTBE) teplotu topenia 143 až 144 °C.

$[\alpha]_D^{29} = +11,04^\circ$ ($c = 1,714$, CHCl_3); 104 až 105 °C.

(+)-Dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)aminometylfosfonát (11 g, 29,6 mmolov) a pyridín-4-karboxaldehyd (6,35 g, 59,3 mmolu) v 125 MeOH sa nechali reagovať s NaBH_3CN (5,6 g, 89 mmolov) rovnakým spôsobom, aký bol opísaný pre (-) enantiomér. Stĺpcovou chromatografiou na silikagéli (95/5 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) sa získal (+)-dietyl- α -(3,5-diterc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)aminometylfosfonát (12 g, 87 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 67 až 70 °C. $[\alpha]_D^{21} = +43,03^\circ$ ($c = 1,984$, CHCl_3);

Príklad 17

Enantioméry dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)-aminometylfosfonátu



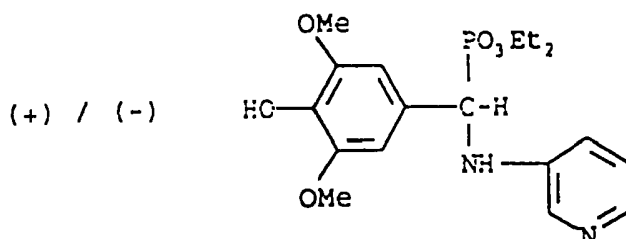
a) Rovnakým spôsobom, ako sa opisuje v príklade 16 sa nechal reagovať (+)- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)aminometylfosfonát (1 g, 2,7 mmolu) a pyridín-3-karboxaldehyd (0,43 g, 4 mmoly) s NaBH_3CN (0,34 g, 5,4 mmolov) v MeOH po dobu 5 hodín pri teplote miestnosti. Po rozotieraní produktu v petroléteri sa získal (+)-dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)-amino-metylfosfonát (1 g, 80 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 116 až 119 °C. $[\alpha]_D^{23} = +42,88^\circ$ ($c = 1,614$, CHCl_3).

b) respektíve sa (-)- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-aminometylfosfonát (1 g, 2,7 mmolu) a pyridín-3-karboxaldehyd (0,43 g, 4 mmoly) nechal reagovať s NaBH_3CN (0,34 g, 5,4 mmolov) v MeOH po dobu 5 hodín pri teplote miestnosti. Po rozotieraní produktu v petroléteri sa získal (-)-dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-piko-

lyl)-aminometylfosfonát (0,7 g, 56 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 118 až 120 °C.

Príklad 18

Enantioméry dietyl- α -(3,5,-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonátu



Uvedené enantioméry sa pripravili z racemickej zmesi separáciou pomocou preparatívnej HPLC na Chiralcelu OD a izokratickou eluáciou s hexánom/etanolom 9/1 s detekciou pomocou UV svetla pri 254 nm. Dosiahla sa separácia až na základnú líniu a čistota pri obidvoch píkoch po odparení na biele tuhé produkty bola taká, že sa analytickou HPLC nepodarila dokázať prítomnosť druhého izoméru.

Prvý pík: retenčný čas 18 minút, $[\alpha_D^{20} = -7,4^\circ$ ($c = 0,244$ % hmotnosť/objem, EtOH)

Druhý pík: retenčný čas 34 minút, $[\alpha_D^{20} = +8,3^\circ$ ($c = 0,255$ % hmotnosť/objem, EtOH) CHCl_3].

Štruktúra obidvoch enantiomérov sa potvrdila NMR a MS spektrometriou a elementárnou analýzou.

Elementárna analýza: $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$

Zloženie vypočítané: 54,4 % C, 6,36 % H, 7,07 % N,

(+)-enantiomér:

Teplota topenia: 153 až 157 °C,

Zloženie stanovené: 53,85 % C, 6,22 % H, 6,81 % N,

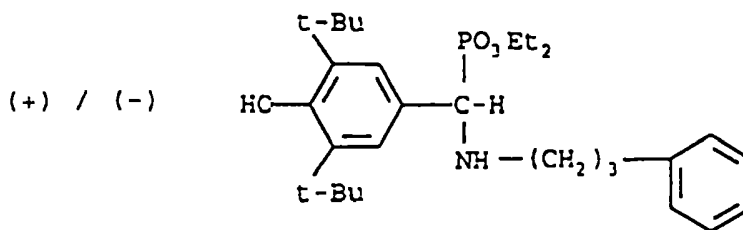
(-)-enantiomér:

Teplota topenia: 155 až 157 °C,

Zloženie stanovené: 54,25 % C, 6,24 % H, 6,94 % N.

Príklad 19

Enantioméry dietyl- α -(3,5,-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-fenylpropyl)-aminometylfosfonátu



a) Pod ochrannou atmosférou dusíka a pri teplote miestnosti sa po dobu 30 minút miešala zmes (-)-dietyl- α -(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)aminometylfosfonátu (1,7 g, 4,5 mmolu) a 3-fenylpropionylaldehydu (0,6 g, 4,5 mmolu) v 20 ml absolútneho metanolu. Potom sa pridal NaBH_3CN (0,3 g, 4,5 mmolu), rozpustený v 10 ml metanolu a zmes sa nechala ďalej reagovať pri teplote miestnosti po dobu 1 hodiny. Potom sa reakčná zmes odparila do sucha a zvyšok sa rozpustil v dichlórmetáne. Organická fáza sa premyla vodou a potom sušila pomocou MgSO_4 . Stĺpcovou chromatografiou s eluačným činidlom 98/2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ sa získal (-)-dietyl- α -(3,5,-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-fenylpropyl)-aminometylfosfonát (1,2 g, 56 % teoretického výťažku).

$[\alpha]_D^{25} = +33,1^\circ$ ($c = 2,055$, CHCl_3).

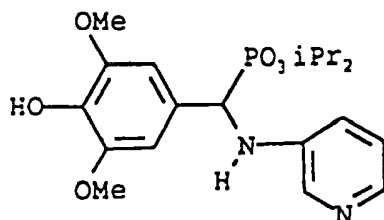
b) Pod ochrannou atmosférou dusíka sa v rovnakých podmienkach ako v časti a) nechala reagovať zmes (+)-dietyl- α -(3,5,-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-aminometylfosfonátu (1,2 g, 3,2 mmolu) a 3-fenylpropionylaldehydu (0,4 g, 3,2 mmolu) v 20 ml absolútneho metanolu. Potom sa pridal NaBH_3CN (0,2g, 3,2 mmolu), rozpustený v 10 ml metanolu a zmes sa nechala ďalej reagovať pri teplote miestnosti po dobu 1 hodiny. Potom sa reakčná zmes odparila do sucha a zvyšok sa rozpustil v dichlórmetáne. Organická fáza sa premyla vodou a potom sušila pomocou MgSO_4 . Stĺpcovou chromatografiou s eluačným činidlom 98/2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ sa získal (+)-dietyl- α -(3,5,-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-fenylpropyl)-aminometylfosfonát (0,94 g, 61 % teoretického výťažku).

$[\alpha]_D^{25} = +31,1^\circ$ ($c = 2,055$, CHCl_3).

c) Štruktúry obidvoch enantiomérov sa potvrdili pomocou IČ, NMR a MS. Boli separované analytickou HPLC na Chiralpaku AD a izokratickou elúciou so zmesou hexánu/2-propanolu (9/1, objemovo).

Príklad 20

Diizopropyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát



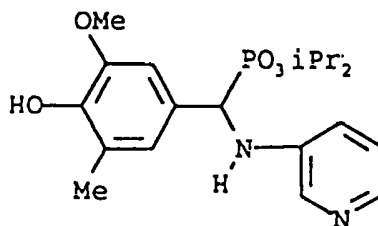
K 3,5-dimetoxy-4-hydroxybenzaldehydu-N-(3pyridyl)-imínu (2,58 g, 10 mmolov), rozpustenému v 15 ml toluénu sa pridal diizopropylfosfit (3,3 g, 20 mmolov) a zmes sa zahrievala pri teplote refluxu po dobu 17 hodín. Rozpúšťadlo a nadbytok diizopropylfosfitu sa potom odparili a zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou (9/1 dichlórmetán/MeOH) a rekryštalizáciou zo zmesi EtOH/AcOEt, čím sa získal biely tuhý produkt (1,56 g, 37 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 157 až 160 °C.

MS (m/e) = 424: M^+ , 259 (100 %): $M^+ - PO_3iPr_2$.

NMR ($CDCl_3$): δ = 8,08, 7,96, 7,03 a 6,84 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,69 (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (široký, 1H): OH, 4,82 (d x d, 1H, J = 7 a 10 Hz): N-H, 4,55 (d x d, 1H, J = 7 a 23 Hz): $CH-PO_3iPr_2$, 4,75 až 4,65 a 4,55 až 4,45 (2m, 2H spolu): P-O- $CH-(CH_3)_2$, 3,86 (s, 6H): OCH_3 , 1,34, 1,28, 1,24 a 0,9 (4d, J = 7 Hz): P-O-CH-(CH_3)₂.

Príklad 21

Diizopropyl- α -(4-hydroxy-3-metoxy-5-metylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát



Zmes 1,9 g (11 mmolov) 4-hydroxy-3-metoxy-5-metylbenzaldehydu (teplota topenia 98 až 100 °C) a 1,08 g (11 mmolov) 3-aminopyridínu, rozpustené v 15 ml toluénu a katalytické

množstvo p-toluénsulfónovej kyseliny (asi 5 mg) sa v banke spojenej s aparátúrou podľa Deana-Starka zahrieva pri teplote refluxu po dobu 15 hodín. Roztok sa potom odparil do sucha, čím sa získalo 2,7 g (100 % teoretického výťažku) surového imínu.

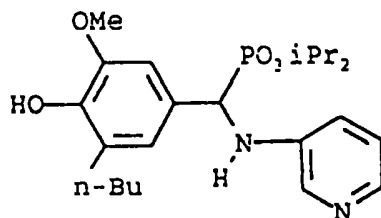
Potom sa k 2,77 g (11 mmolov) pripraveného imínu, rozpusteného v 20 ml THF pridal diizopropylfosfit (5,48 g, 33 mmolov) a zmes sa zahrieva pri teplote refluxu po dobu 24 hodín. Rozpúšťadlo a nadbytok diizopropylfosfitu sa odparili a zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou (95/5 dichlórmetán/MeOH) a rekryštalizáciou z prostredia zmesi petroléteru/dichlórmetánu sa získal produkt vo forme bielej tuhej látky (1,9 g, 43 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 123 až 124 °C.

MS (m/e) = 408: M^+ , 243 (100 %): $M^+ - PO_3iPr_2$.

NMR ($CDCl_3$): δ = 8,07, 7,95, 7,02 a 6,84 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,83 až 6,81 (m, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (s, 1H): OH, 4,78 (d x d, 1H, J = 7,5 a 10 Hz): N-H, 4,30 (d x d, 1H, J = 7,5 a 23 Hz): $CH-PO_3iPr_2$, 4,73 až 4,65 a 4,48 až 4,40 (2m, 2H spolu): P-O- $CH-(CH_3)_2$, 3,85 (s, 3H): OCH_3 , 2,22 (s, 3H): CH_3 , 1,33, 1,26, 1,24 a 0,96 (4d, J = 7 Hz): P-O- $CH-(CH_3)_2$.

Príklad 22

Diizopropyl- α -(3-n-butyl-4-hydroxy-5-metoxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát



Zmes 6,1 g (30 mmolov) 3-n-butyl-4-hydroxy-3-metoxybenzaldehydu a 2,76 g (30 mmolov), 3-aminopyridínu, rozpustené v 50 ml toluénu a katalytické množstvo p-toluénsulfónovej kyseliny (asi 5 mg) sa v banke spojenej s aparátúrou podľa Deana-Starka zahrieva pri teplote refluxu po dobu 16 hodín. Roztok sa potom odparil do sucha, čím sa získalo 7,8

g (94 % teoretického výťažku) surového imínu.

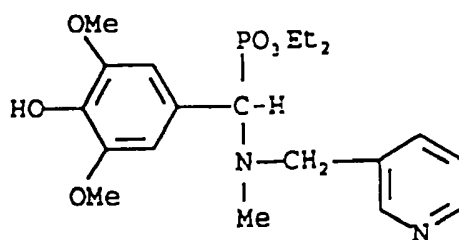
Potom sa k 2,4 g (8 mmolov) pripraveného imínu, rozpusteného v 30 ml THF pridal diizopropylfosfit (4,20 g, 25 mmolov) a zmes sa zahrievala pri teplote refluxu po dobu 24 hodín. Rozpúšťadlo a nadbytok diizopropylfosfitu sa odparili a zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou (95/5 dichlórmetán/MeOH) a rekryštalizáciou z prostredia zmesi petroléteru/dichlórmetánu, čím sa získal produkt vo forme bielej tuhej látky (1,9 g, 43 % teoretického výťažku) s teplotou topenia 142 až 144 °C.

MS (m/e) = 450: M^+ , 285 (100 %): $M^+ - PO_3iPr_2$.

NMR ($CDCl_3$): δ = 8,07, 7,95, 7,0 a 6,84 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,83 až 6,80 (m, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (s, 1H): OH, 4,74 (d x d, 1H, J = 7,5 a 10 Hz): N-H, 4,54 (d x d, 1H, J = 7,5 a 23 Hz): $CH-PO_3iPr_2$, 4,75 až 4,65 a 4,50 až 4,40 (2m, 2H spolu): P-O- $CH-(CH_3)_2$, 3,85 (s, 3H): OCH_3 , 2,60 (t, 2H), 1,5 (m, 2H), 1,31 (m, 2H) a 0,90 (t, 3H): n-Bu, 1,33, 1,26, 1,24 a 0,96 (4d, J = 7 Hz): P-O- $CH-(CH_3)_2$.

Príklad 23

Dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-metyl-N-(3-pikolyl)-aminometylfosfonát



Zmes 3,0 g (16,5 mmolov) 3,5-dimetoxy-4-hydroxybenzaldehydu, 2,03 g (16,6 mmolov) N-metyl-3-pikolylaminu a 2,3 g (16,6 mmolu) dietylfosfitu, rozpustených v 15 ml toluénu a katalytické množstvo p-toluénsulfónovej kyseliny (asi 5 mg) sa v banke pripojili k aparatúre podľa Deana-Starka a zahrievali sa pri teplote refluxu po dobu 2 hodín. Potom sa roztok odparil a zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou (95/5 dichlórmetán/MeOH), čím sa získalo 3,2 g (46 %

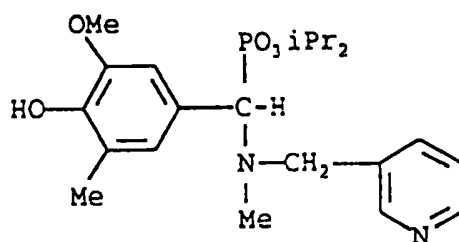
teoretického výťažku) žltého oleja.

MS (m/e) = 287 : $M^+ - PO_3Et_2$.

NMR ($CDCl_3$): δ = 8,55, 8,51, 7,72, a 7,27 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pikolyl, 6,73 (d, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (široký, 1H): OH, 4,25 3,94 a 3,7 (3m, 4H): P-O-CH₂-CH₃, 3,89 (d, J = 23 Hz, 1H): CH-PO₃Et₂, 3,9 a 3,4 (2d, 2H): N(CH₃)-CH₂-Py, 3,91 (s, 6H): OCH₃, 2,41 (s, 3H): N(CH₃)-CH₂-Py, 1,39 a 1,08 (2t, J = 7 Hz, 6H): P-O-CH₂-CH₃.

Príklad 24

Diizopropyl- α -(4-hydroxy-3-metoxy-5-metylfenyl)-N-metyl-N-(3-pikolyl)-aminometylfosfonát



Zmes 2,0 g (12 mmolov) 4-hydroxy-3-metoxy-5-metylbenzaldehydu, 1,8 g (13,2 mmolov) N-metyl-3-pikolylamínu a 2,2 g (13,2 mmolu) diizopropylfosfitu, rozpustených v 15 ml toluénu a katalytické množstvo p-toluénsulfónovej kyseliny (asi 2 mg) sa v banke pripojili k aparátúre podľa Deana-Starka a zahrievali sa pri teplote refluxu po dobu 2 hodín. Potom sa roztok odparil a zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou (95/5 dichlórmetán/MeOH), čím sa získalo 2,1 g (40 % theoretického výťažku) žltého oleja.

MS (m/e) = 271 (100 %) : $M^+ - PO_3iPr_2$.

NMR ($CDCl_3$): δ = 8,54, 8,50, 7,72, a 7,24 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pikolyl, 6,97 a 6,77 (2m, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,75 (široký, 1H): OH, 4,86 až 4,78 a 4,51 až 4,42 (2m, 2H spolu): P-O-CH-(CH₃)₂, 3,84 (d, J = 24 Hz, 1H): CH-PO₃iPr₂, 3,97 a 3,34 (2d, J = 13,5 Hz, 2H): N(CH₃)-CH₂-Py, 3,91 (s, 3H): OCH₃, 2,36 (s, 3H) 2,26 (s, 3H): N(CH₃)-CH₂-Py, 1,39, 1,37, 1,21 a 0,83 (4d, J = 7 Hz, 12H): P-O-CH-(CH₃)₂.

Podobnými spôsobmi, aké sú uvedené v príkladoch 1 až 24 možno pripraviť tiež nasledujúce zlúčeniny:

dietyl- α -(4-hydroxy-3-metoxi-5-n-propylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

diizopropyl- α -(4-hydroxy-3-metoxi-5-n-propylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

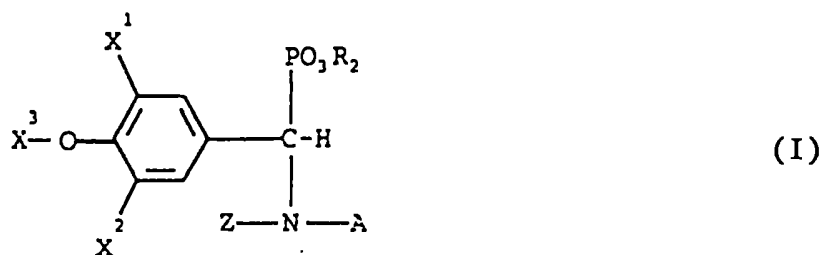
dietyl- α -(3-i-butyl-4-hydroxy-5-metoxifenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát, a

diizopropyl- α -(3-i-butyl-4-hydroxy-5-metoxifenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát.

V Tabuľke 1 sa uvádzajú fyzikálne-chemické údaje zlúčenín so vzorcom (I), ktoré boli pripravené spôsobmi, ozrejmými Príkladmi 1 až 24 z tejto prihlášky vynálezu. Uvedené spôsoby sú zverejnené v EP 0 559 079 A (zodpovedajúcom patentu USA 5 424 303).

Tabuľka 1

Aminofosfonátová zlúčenina všeobecného vzorca (I)



Tabuľka 1 - pokračovanie

zlúč	X ¹	X ²	X ³	Z	A	R	t. t. (°C)	Mikroanalýza
1	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	Me	168-170	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₄ P
2	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	Et	155-156	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
3	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	iPr	135-137	C ₂₆ H ₄₁ N ₂ O ₄ P
4	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	nPr	133-135	C ₂₆ H ₄₁ N ₂ O ₄ P
5	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	nBu	112-114	C ₂₈ H ₄₅ N ₂ O ₄ P
6	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	Me	120-122	C ₂₃ H ₃₅ N ₂ O ₄ P
7	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	Et	87-91	C ₂₅ H ₃₉ N ₂ O ₄ P
8	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	iPr	126-128	C ₂₇ H ₄₃ N ₂ O ₄ P
9	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	nPr	108-110	C ₂₇ H ₄₃ N ₂ O ₄ P
10	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	nBu	60-61	C ₂₉ H ₄₇ N ₂ O ₄ P
11	tBu	tBu	H	COMe	4-pikolyl	Et	160-162	C ₂₇ H ₄₁ N ₂ O ₅ P
12	tBu	tBu	H	H	5-(2-chloropyridyl)	Et	124-126	C ₂₄ H ₃₆ ClN ₂ O ₄ P
13	tBu	tBu	H	H	2-pyridyl	Et	116-118	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
14	tBu	tBu	H	H	4-pyridyl	Et	116-119	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
15	tBu	tBu	H	H	3-pikolyl	Et	100-101	C ₂₅ H ₃₉ N ₂ O ₄ P
16	tBu	tBu	H	H	2-pikolyl	Et	90-91	C ₂₅ H ₃₉ N ₂ O ₄ P
17	tBu	tBu	H	H	2-(2-pyridyl)etyl	Et	76-78	C ₂₆ H ₄₁ N ₂ O ₄ P

zlúč	X ¹	X ²	X ³	Z	A	R	t. t. (°C)	Mikroanalýza
18	H	H	H	H	3-pyridyl	Et	210-212	C ₁₆ H ₂₁ N ₂ O ₄ P
19	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Me	186-187	C ₁₆ H ₂₁ N ₂ O ₆ P
20	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Et	181-183	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
21	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	iPr	157-160	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₆ P
22	OMe	OMe	H	H	2-pikolyl	Et	olej	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
23	OMe	OMe	H	H	3-pikolyl	Et	99-101	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
24	OMe	OMe	H	H	4-pikolyl	Et	125-127	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
25	OMe	H	H	H	3-pyridyl	Et	171-173	C ₁₇ H ₂₃ N ₂ O ₅ P
26	OEt	H	H	H	3-pyridyl	Et	185-187	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₅ P
27	OMe	OMe	Me	H	3-pyridyl	Et	134-136	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
28	Me	Me	H	H	3-pyridyl	Et	176-178	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₄ P
29	OMe	OMe	H	H	2-pyridyl	Et	163-165	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
30	OMe	OMe	H	H	4-pyridyl	Et	172-174	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P

31	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	nPr	142-143	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₆ P
32	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	nBu	158-160	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₆ P
33	OMe	NO ₂	H	H	3-pyridyl	Et	212-213	C ₁₇ H ₂₂ N ₃ O ₇ P
34	OMe	OMe	H	H	5-(2-chloropyridyl)	Et	193-195	C ₁₈ H ₂₄ ClN ₂ O ₆ P
35	OMe	OMe	H	H	5-(2-metoxypyridyl)	Et	135-137	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₇ P
36	OMe	OMe	H	H	3-(2-methylpyridyl)	iPr	148-150	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₆ P
37	OMe	OMe	H	H	5-(2-methylpyridyl)	Et	189-190	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
38	OMe	OMe	H	H	5-(2-methylpyridyl)	iPr	150-152	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₆ P
39	Me	t-Bu	H	H	3-pyridyl	Et	90-91	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₄ P
40	iPr	iPr	H	H	3-pyridyl	Et	174-176	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₄ P
41	sBu	sBu	H	H	3-pyridyl	Et	140-141	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
42	Et	Et	H	H	3-pyridyl	Et	170-171	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₄ P
43	OMe	Me	H	H	3-pyridyl	Et	164-166	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₅ P
44	OMe	Me	H	H	3-pyridyl	iPr	123-125	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₅ P
45	OMe	nBu	H	H	3-pyridyl	Et	133-134	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
46	OMe	nBu	H	H	3-pyridyl	iPr	142-144	C ₂₃ H ₃₅ N ₂ O ₅ P
47	OMe	Me	H	H	3-pikolyl	Et	99-101	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
48	OMe	Me	H	H	3-pikolyl	iPr	85-86	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
49	OMe	Me	H	H	4-pikolyl	Et	129-130	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
50	OMe	Me	H	H	4-pikolyl	iPr	138-141	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P

Tabuľka 1 - pokračovanie

zlúč	X ¹	X ²	X ³	Z	A	R	t. t. (°C)	Mikroanalýza
51	Me	Me	H	H	3-pyridyl	iPr	169-171	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₄ P
52	OE _t	H	H	H	3-pyridyl	iPr	192-194	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₅ P
53	OE _t	Me	H	H	3-pyridyl	Et	172-173	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
54	OE _t	Me	H	H	3-pyridyl	iPr	177-178	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
55	OE _t	OE _t	H	H	3-pyridyl	Et	130-132	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₆ P
56	OE _t	OE _t	H	H	3-pyridyl	iPr	149-150	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₆ P
57	OMe	Et	H	H	3-pyridyl	Et	139-141	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
58	OMe	Et	H	H	3-pyridyl	iPr	146-148	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
59	OMe	OE _t	H	H	3-pyridyl	Et	156-157	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
60	OMe	OE _t	H	H	3-pyridyl	iPr	159-160	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₆ P
61	OMe	OMe	H	Me	3-pikolyl	Et	olej	*NMR a MS
62	OMe	OMe	H	Me	3-pikolyl	iPr	olej	*NMR a MS
63	OMe	Me	H	Me	3-pikolyl	Et	olej	*NMR a MS
64	OMe	Me	H	Me	3-pikolyl	iPr	olej	*NMR a MS
65	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Et	153-157	**C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
66	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Et	155-158	***C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
67	OMe	OMe	H	H	fenyl	Et	143-146	C ₁₉ H ₂₆ NO ₆ P
68	OMe	OMe	H	H	fenyl	iPr	144-146	C ₂₁ H ₃₀ NO ₆ P
69	OMe	Me	H	H	5-(2-metylpyridyl)	Et	154-155	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
70	OMe	Me	H	H	5-(2-metylpyridyl)	iPr	149-150	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
71	OMe	Me	H	H	3-(2-metylpyridyl)	Et	150-152	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
72	OMe	Me	H	H	3-(2-metylpyridyl)	iPr	148-150	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
73	OMe	OMe	H	H	3-(2-metylpyridyl)	Et	146-148	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P

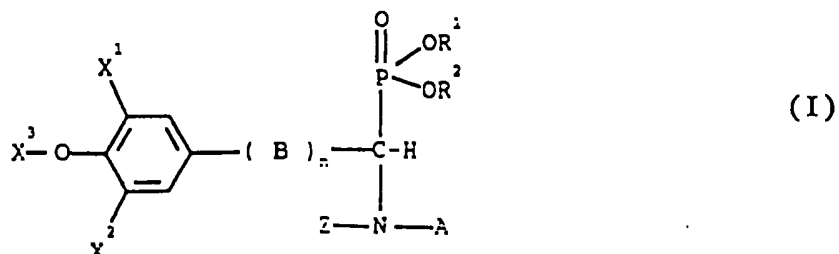
* Identifikované pomocou NMR a MS-spektroskopie

** (+)-enantiomér zlúčeniny 20

*** (-)-enantiomér zlúčeniny 20

Tabuľka 1 - pokračovanie

Aminofosfonátová zlúčenina všeobecného vzorca (I)



zlúč	X¹	X²	X³	(B) _n	Z	R	t.t.(°C)	Mikroanalýza
	H	O	CH ₂	väzba	H	Et	98-99	C ₁₇ H ₂₁ N ₂ O ₅
	OMe	OMe	H	CH=CH	H	Et	pena	*NMR a MS
	OMe	OMe	H	CH ₂ -CH ₂	H	Et	134-138	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₆ P

* Identifikované pomocou NMR a MS-spektra

Biologické údaje

Údaje *in vitro*

Zlúčeniny, ktoré majú vzorec (I) podľa tohto vynálezu, boli hodnotené podľa znižovania produkcie Lp(a) v primárnych kultúrach hepatocytov Cynomolga ďalej uvedenými skúškami. Pri hodnotení sa použili dve inkubačné doby: 4 hodiny pri skúške 1 a 24 hodín pri skúške 2.

Protokol skúšky

Z pečene dospelých opíc Cynomolpus sa izolovali hepatocyty dvojstupňovým kolagenázovým perfúznym spôsobom podľa C. Gugueny-Guillouzoa a A. Guillouzoa "Methods for preparation of adult and fetal hepatocytes" strana 1 až 12 v: "Isolated and Cultured Hepatocytes" v edícii Inserm Paris a John Libbey Eurotext, Londýn (1986).

Životnosť buniek sa určovala farbením tryptánovou modrou. Bunky sa potom očkovali s hustotou $1,5$ až $2 \cdot 10^5$ živých buniek na 2 cm^2 v 24 jamkových kultivačných platniach v objeme $500 \mu\text{l}$ na jamku v prostredí na tkanivové kultúry podľa Williamsa, obsahujúceho 10 % fetálneho telacieho séra. Bunky sa inkubovali 4 až 6 hodín pri 37°C v CO_2 inkubátore (5 % CO_2) za prítomnosti $20 \mu\text{l}$ skúšaných zlúčenín, rozpustených v etanole. Na každú zlúčeninu sa použili 4 jamky. Na kontrolu skúšobného systému sa ako porovnávacie použili kyselina nikotínová a steroidné hormóny, o ktorých je známe, že znižujú Lp(a) u človeka. Kontrolné, porovnávacie skúšky sa vykonávali iba za prítomnosti etanolu.

Množstvo sekretovaného Lp(a) v kultivačnom prostredí sa priamo určovalo pomocou ELISA. Použila sa bežne dodávaná súprava ELISA. Bunky sa premyli a podrobili lýze, ako opisuje A. L. White et al., *Jornal of Lipid Research* 34, 509 až 517 (1993) a hore opísaným spôsobom sa určil obsah Lp(a) v bunkách.

Zmeny v koncentráciách Lp(a) kultivačného prostredia sú udané ako % z hodnoty, stanovenej u kontrolných vzoriek po 4 hodinách (Skúška 1) alebo po 24 hodinách (Skúška 2).

Výsledky

Skúška 1: u zlúčenín 2, 7, 11, 15, 16, 18 a 20 sa ukázalo, že zmenili koncentrácie Lp(a) v kultivačnom prostredí v rozmedzí od -12 do -34 %.

Skúška 2: u zlúčenín 1, 2, 3, 5, 7, 11, 13, 15, 17, 19, 20, 21, 26 až 29, 32, 34 až 52, 57 až 60, 65 a 66 sa ukázalo, že zmenili koncentrácie Lp(a) v kultivačnom prostredí v rozmedzí od -7 do -37 %.

Údaje *in vivo*

Študijný protokol

Samci opíc *Cynomolgus* s hmotnosťou medzi 3 a 7 kg boli rozdelení do skupín po 3 až 4 zvieratá v každej skupine. Pred začiatkom skúšky sa počas dvoch mesiacov u nich stano-

vovali hladiny Lp(a), aby sa dosiahli bezpečné základné konštantné hodnoty hladín. Skúšané zlúčeniny sa podávali orálne s potravou v dávkach $25 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{deň}^{-1}$ po dobu 4 týždňov a Lp(a) sa meral 28. deň. Po skončení obdobia podávania sa zvieratá chovali 4 ďalšie týždne bez liečenia. Po tomto období sa ich hladiny Lp(a) vrátili na úroveň pred podávaním zlúčenín. Táto kontrola poskytla dôkaz, že meraním zistený pokles Lp(a) bol spôsobený farmakologickým účinkom skúšaných zlúčenín.

Výsledky

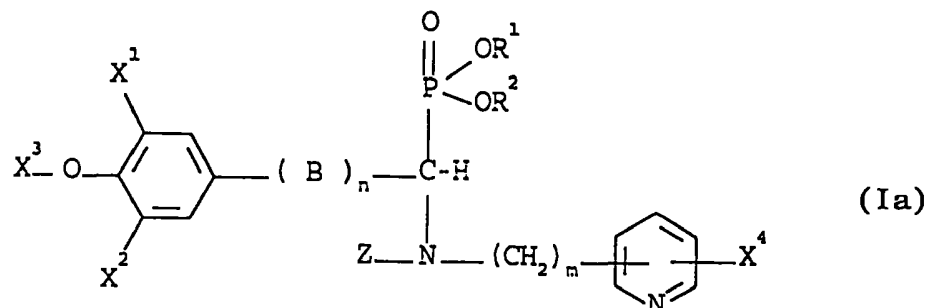
V dňoch -7 a 28 (po pôste cez noc) sa odobrali vzorky krve a stanovovala sa Lp(a) vysokocitlivou a špecifickou skúškou ELISA. Výsledky (stredná hodnota 3 až 4 stanovení v každej skupine) sa vyjadrili ako % z hodnoty pred podávaním (deň -7). V uvedených experimentálnych podmienkach sa skúmala farmakologická účinnosť *in vivo* vybraných zlúčenín, ktoré majú vzorec (I).

Zlúčeniny číslo 1, 2, 3, 7, 15, 17, 19, 20, 21, 27, 28, 32, 39, 44 a 52 znížili Lp(a) plazmy v rozmedzí od -13 do -51 % (hodnoty stanovené v deň 28, % zmeny vzhľadom na deň -7 pred podávaním).

Uvedené zlúčeniny, ktoré majú vzorec (I) majú preto terapeutický potenciál na liečbu ďalej uvedených chorôb, u ktorých Lp(a) je v spojení s urýchlenou aterosklerózou, abnormálnou proliferáciou buniek hladkých svalov a zvýšenou trombogenezou: koronárne srdcové choroby, ochorením periférnych tepien: prechodné krívanie, ateroskleróza extrakraniálnych krčných tepien, porážka, restenózy po angioplastii a ateroskleróza po transplantácii srdca. Primárne indikácie týchto zlúčenín sú pri liečbe hore uvedených chorôb.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Aminofosfonátová zlúčenina všeobecného vzorec (Ia):



v ktorom

X¹ je vodík, C₍₁₋₃₎-alkyl, hydroxy alebo C₍₁₋₄₎-alkoxy;
 X² je C₍₁₋₃₎-alkyl, alebo C₍₁₋₄₎-alkoxy;
 X³ je vodík, alebo C₍₁₋₄₎-alkyl;
 R¹, R², ktoré môžu byť jednaké alebo rôzne, znamenajú vodík, alebo C₍₁₋₃₎-alkyl;
 B je CH₂CH₂, CH = CH, alebo CH₂;
 n je nula alebo 1;
 Z je vodík alebo C₍₁₋₈₎alkylová skupina;
 m je nula alebo 1;
 X⁴ je vodík, alebo C₍₁₋₈₎alkyl, C₍₁₋₈₎alkoxy, alebo halogén;
 a pyridylový kruh je viazaný uhlíkom kruhu v α- alebo β- polohe k dusíku (2- alebo 3-pyridyl); alebo
 jej farmaceuticky prípustná soľ.

2. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, v ktorom X¹ je vodík, metyl alebo metoxy.

3. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1 alebo 2, v ktorom X² je metyl alebo metoxy.

4. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, v ktorom, X¹ a X² sú obidva C₍₁₋₄₎-alkoxy, alebo jeden z X¹ a X² je C₍₁₋₃₎-alkyl a druhý je C₍₁₋₄₎-alkoxy.

5. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, v ktorom X^1 a X^2 sú metoxy a metoxy, metoxy a metyl, n-propyl alebo izopropyl, alebo metyl a metyl alebo terc-butyl.

6. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa niektorého z nárokov 1 až 5 v ktorom X^3 je vodík.

7. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa niektorého z nárokov 1 až 6 v ktorom, $(B)_n$ je priama väzba.

8. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa niektorého z nárokov 1 až 7 v ktorom, R^1 a R^2 každé znamená nerozvetvenú alebo rozvetvenú $C_{(1-3)}$ -alkylovú skupinu.

9. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 8 v ktorom, R^1 a R^2 je každé C_2 alebo C_3 alkylová skupina.

10. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa niektorého z nárokov 1 až 9 v ktorom, Z znamená vodík.

11. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa niektorého z nárokov 1 až 10 v ktorom, X^4 je vodík alebo metyl, ktorý je s výhodou na uhlíku, ktorý je priľahlý k dusíku.

12. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa niektorého z nárokov 1 až 11 v ktorom, je uvedený pyridylový kruh viazaný cez uhlík kruhu, ktorý je v β -polohe k dusíku (3-pyridyl).

13. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, vybraná z:

dietyl- α -(4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometyl-fosfonát,
dietyl- α -(3,4-metyléndioxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát,
dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát,

dimetyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát,

diizopropyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridyl)aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pyridyl)aminometylfosfonát,

• dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pikolyl)aminometylfosfonát,

• dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)aminometylfosfonát,

dietyl- α -(4-hydroxy-3-metoxifenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3-etoxi-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,4,5-trimetoxifenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát,

dietyl- α -(3,5-dimetyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminometylfosfonát,

(+)-dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

(-)-dietyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

• diizopropyl- α -(3,5-dimetoxy-4-hydroxyfenyl)-N-[5-(2-metylpyridyl)]-aminometylfosfonát,

• dietyl- α -(4-hydroxy-3-metoxi-5-metylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

diizopropyl- α -(4-hydroxy-3-metoxi-5-metylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát,

dietyl- α -(4-hydroxy-3-metoxi-5-n-propylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát, a

diizopropyl- α -(4-hydroxy-3-metoxi-5-n-propylfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminometylfosfonát.

14. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje zlúčeninu všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľný nosič a/alebo prídavnú látku.

15. Zlúčenina všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, na použitie v terapii.

16. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, na výrobu liečiva na liečbu ochorenia periférnych tepien znížením hladín lipoproteínu(a) plazmy.

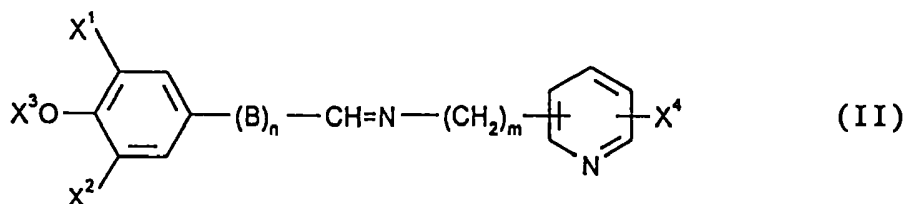
17. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, na výrobu liečiva na liečbu trombózy znížením hladín lipoproteínu(a) plazmy.

18. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, na výrobu liečiva na liečbu restenózy po angioplastii znížením hladín lipoproteínu(a) plazmy.

19. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, na výrobu liečiva na liečbu aterosklerózy znížením hladín lipoproteínu(a) plazmy.

20. Spôsob výroby zlúčeniny všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa

a) ak Z je vodík, reakciu imínu so vzorcom (II):



v ktorom B, X^1 , X^2 , X^3 a n definované podľa nároku 1

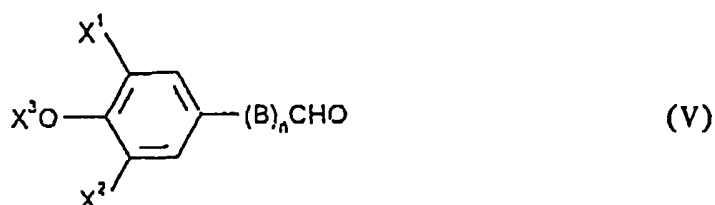
s fosfitovou zlúčeninou, ktorá má vzorec (III):



v ktorom

R^1 a R^2 sú definované v nároku 1,
alebo s jej trialkylsilylovým derivátom alebo jeho soľou,
za prítomnosti alebo neprítomnosti katalyzátora, voliteľne
v prostredí rozpúšťadla;

b) pre zlúčeniny všeobecného vzorca (Ia), v ktorých Z nie je
vodík, reakciou ekvimolových množstiev aldehydu, ktorý má
vzorec (V):



v ktorom

B, X^1 , X^2 , X^3 a n sú rovnaké, ako je definované v nároku 1;
so sekundárnym amínom, ktorý má vzorec (VII):

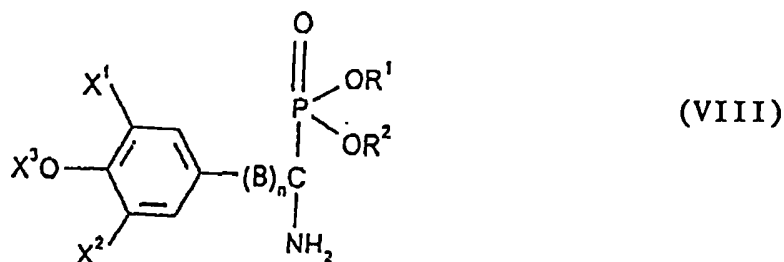


v ktorom

Z je $\text{C}_{(1-8)}$ -alkylová skupina a A je rovnaké, ako bolo defi-
nované vyššie;

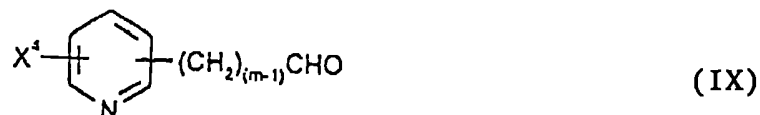
a s fosfitom so vzorcom (III);

(c) v zlúčeninách so vzorcom (I), v ktorých m nie je nula,
pôsobením zlúčeniny so vzorcom (VIII):



v ktorom

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n sú definované v nároku 1;
na aldehyd so vzorcom (IX):

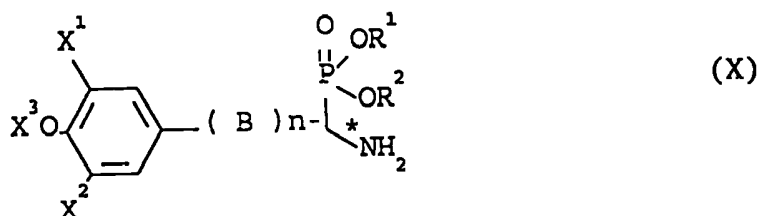


v ktorom

m je celé číslo od 1 po 5 a X⁴ je rovnaké ako bolo definované vyššie,

v podmienkach vhodných na redukčnú amináciu.

21. Spôsob výroby jednotlivého enantioméru aminofosfonátu všeobecného vzorca (Ia) podľa nároku 1, v y z n a č u - j ú c i s a t ý m, že zahŕňa reakciu buď (+) alebo (-) enantioméru α-substituovaného aminometylfosfonátu, ktorý má vzorec (X)



v ktorom

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n sú definované v nároku 1,
s aldehydom, ktorý má vzorec (XI):



v ktorom

R³ je alkylová skupina s jedným až štyrmi uhlíkovými atómami, perfluóralkylová skupina s 1 až 4 uhlíkovými atómami
v podmienkach vhodných na redukčnú amináciu.

22. Spôsob podľa nároku 21, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že reakcia sa vykoná za prítomnosti kyanobórhydridu sodného v alkoholovom rozpúšťadle, výhodne v metanole, pri pH medzi 3 a 6 a pri teplote medzi 0 °C a 25 °C.