

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

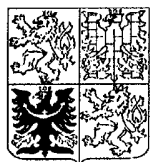
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

182-99

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **15. 07. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **23.07.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96MI/001544**

(33) Země priority: **IT**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16. 06. 99**
(Věstník č. 6/99)

(86) PCT číslo: **PCT/EP97/03773**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 98/03472**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 C 237/06
C 07 C 237/20
A 61 K 31/16

(71) Přihlašovatel:

CHIESI FARMACEUTICI S. P. A., Parma, IT;

(72) Původce:

Chiesi Paolo, Parma, IT;

Ventura Paolo, Parma, IT;

Delcanale Maurizio, Parma, IT;

De Fanti Renato, Parma, IT;

Armani Elisabetta, Parma, IT;

Villetti Gino, Parma, IT;

Pietra Claudio, Parma, IT;

(74) Zástupce:

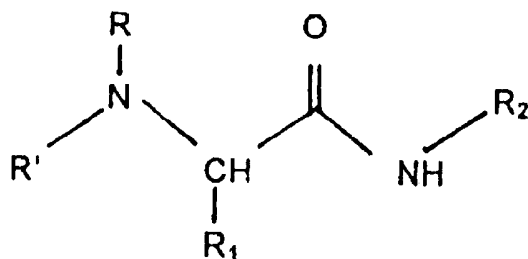
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha
1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Amidy alfa-aminokyselin, jejich výroba
a farmaceutický prostředek**

(57) Anotace:

Serinamidové, glycinamidové, alaninamidové
a fenylalaninamidové deriváty obecného vzor-
ce I, kde R, R₁ a R₂ mají význam uvedený v
popisu. Sloučeniny obecného vzorce I jsou
použitelné pro léčení neurologických one-
mocnění.



Amidy alfa-aminokyselin, jejich výroba a farmaceutický prostředek

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká amidů α -aminokyselin, způsobů jejich výroby a farmaceutických prostředků s jejich obsahem.

Dosavadní stav techniky

GB patent 2048852 (Continental Pharma S. A.) popisuje 2-aminoacetamidové (běžně označované jako glycinamidové) deriváty, které mohou být použity při léčení epilepsie, při léčbě pohybových poruch jako je Parkinsonova choroba, při léčení poruch paměti a patrně i při léčení deprese.

Některé z popisovaných sloučenin podávané orálně v dávkách 100 až 1000 mg/kg ukázaly protikřečové účinky proti tonickým křečím myši indukovaných bicuculinem.

Konkrétně byl studován 2-n-pentylaminoacetamid (v následujícím textu označovaný názvem milacemid) a jeho hydrochlorid.

Milacemid byl použit jako referenční sloučenina pro testování farmakologické účinnosti sloučenin podle předkládaného vynálezu.

EP-B1-0400495 (Farmitalia Carlo Erba) popisuje α -aminkarboxamid N-fenylalkylsubstituované deriváty.

Příklady zvláště výhodných sloučenin jsou aminopropionamid (konkrétně alaninamid a serinamid) a aminoacetamid (glycinamid) N-fenylalkylsubstituované deriváty. Uvedené sloučeniny mají účinky na centrální nervovou soustavu a mohou být použity jako látky s antiepileptickým, antiparkinsonickým, antineurodegenerativním, antidepresivním, hypnotickým a antispastickým účinkem.

Účinnost sloučenin byla testována na myši jako protikřečové působení proti křečím indukovaným bicuculinem nebo kyselinou 3-merkaptopropionovou.

Sloučeniny popisované v EP-B1-0400495 jsou také silné inhibitory monoaminoxidázy (MAO).

WO 94/22808 a WO 94/22809 (Pharmacia/Farmitalia Carlo Erba) popisují další aminopropionamidové deriváty s účinky na centrální nervovou soustavu, popřípadě substituované skupinami arylalkoxybenzyl a arylalkylaminobenzyl.

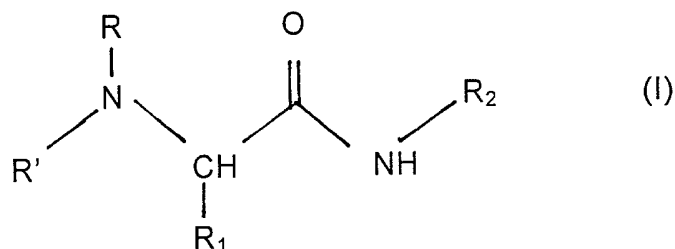
Jedním z nejlepším představitelů sloučenin podle vynálezu ve WO 94/22808 je FCE28245, chemicky methansulfonát 2-{4[3-fenylpropyl]oxybenzyl}-amino-3-hydroxypropanamidu, který má být v testu účinný proti křečím způsobeným elektrickými šoky u myši.

PCT No. WO 95/18617 (Teva-Technion) a PCT No. WO 96/21640 (Teva-Lemmon) popisují 1-aminobenzocykloalkanové deriváty, jako jsou 1-aminoindany a 1-aminotetraliny, které mohou být použity při léčení Parkinsonovy choroby, demence, epilepsie a u posttraumatických onemocnění.

Některé z popisovaných sloučenin, jako například N-(2-acetamido)-1-aminoindan a jeho opticky aktivní formy; N-(2-acetamido)-6-fluor-1-aminoindan; N-(2-acetamido)-1-aminotetralin; N,N-di-(2-acetamido)-1-aminoindan a N-(2-propionamido)-1-aminoindan však nebyly v testu protikřečových účinků příliš účinné a zdá se, že nemají zvláště výhodný terapeutický index.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález se týká serinamidových, glycinamidových, alaninamidových a fenylalaninamidových derivátů obecného vzorce (I):



kde:

- R je přímý nebo rozvětvený alkyl; cykloalkylalkyl; arylalkyl nebo fenylalkyl, popřípadě substituovaný v kruhu skupinou alkyl, halogen nebo haloalkyl; fuzovaný nebo nefuzovaný aryl popřípadě substituovaný skupinou alkyl, alkoxy, halogen nebo haloalkyl;
- R' je atom vodíku; alkyl; fenyl; fenylalkyl;
- R₁ je popřípadě acylovaný C₁-C₄ hydroxyalkyl nebo fenylalkyl, kde R je alkyl, cykloalkylalkyl, arylalkyl;
- R₁ je atom vodíku, C₁-C₄ alkyl, popřípadě acylovaný C₁-C₄ hydroxyalkyl nebo fenylalkyl, kde R je aryl;
- R₂ je atom vodíku; alkyl; fenyl; fenylalkyl.

Alkylová skupina je s výhodou, pokud není specifikováno jinak, C₁-C₁₀ alkylová skupina jako methyl, ethyl, n-propyl, izopropyl, n-butyl, izobutyl, n-pentyl, n-hexyl, n-heptyl, n-oktyl, n-nonyl, 2-ethylpentyl, 1-ethylheptyl, 1-methyloktyl, 4-heptyl.

Cykloalkylalkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části a 3 až 7 atomy uhlíku v cykloalkylové části jako je cyklopropylmethyl, cyklopentylmethyl, cyklohexylmethyl, 1-(5-norbornylenyl)ethyl.

Popřípadě substituovaná arylalkylová nebo fenylalkylová skupina je s výhodou 2-naftalenylmethyl, benzyl, fenethyl, fenylpropyl, fenylbutyl, 3-(4-methylfenyl)propyl, 3-(4-fluorfenyl)propyl, 3-(4-chlorfenyl)propyl, 3-(4-trifluormethylfenyl)propyl, 3-fenyl-1-

methylpropyl, 2-fenyl-1-methylethyl, 3-fenyl-3-methyl-propyl, 1-fenylethyl.

Fuzovaná nebo nefuzovaná arylová skupina je s výhodou 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl, 2-indanyl popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami alkoxy, halogen nebo haloalkyl.

Acylovaná C_1 - C_4 hydroxyalkylová skupina je s výhodou acetoxyalkyl, propanoyloxyalkyl, 2-methylpropanoyloxyalkyl, benzoyloxyalkyl.

Výhodnou třídou sloučenin jsou látky, kde:

R_1 je CH_2OH ; R je C_3 - C_{10} alkyl, C_2 - C_4 fenylalkyl, 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl nebo 2-indanyl, popřípadě substituovaná skupinou alkyl, alkoxy, halogen nebo haloalkyl; R' je atom vodíku nebo methyl a R_2 je atom vodíku nebo methyl.

Zvláště výhodnou podtřídou jsou sloučeniny, kde R_1 je CH_2OH ; R je fenyl- (C_2-C_3) -alkyl nebo 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl, nebo 2-indanyl popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami alkoxy, halogen, haloalkyl; R' a R_2 znamenají atom vodíku.

Druhou třídou výhodných sloučenin jsou látky, kde R_1 je atom vodíku nebo methyl, R je 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl nebo 2-indanyl, popřípadě substituovaný jednou nebo více skupinami alkoxy, halogen, haloalkyl a R' a R_2 jsou atom vodíku.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být ve formě adičních solí s anorganickými nebo organickými kyselinami.

Sloučeniny podle vynálezu mohou mít navíc jeden nebo dva asymetrické atomy uhlíku, a proto mohou být použity jak ve formě směsí obsahujících více diastereoizomerů v jakémkoliv poměru, tak i ve formě racemických směsí obsahujících páry enantiomerů ve stejných nebo odlišných poměrech, a ve formě opticky čistých sloučenin.

Sloučeniny podle vynálezu mohou být použity při léčení chronických neurodegenerativních onemocnění, jako je Alzheimerova choroba, různé formy demence, Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba nebo akutní neurodegenerativní poruchy jako je mrtvice a poranění hlavy; a při léčení epilepsie a deprese.

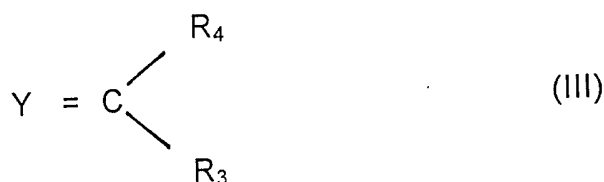
Bylo totiž zjištěno, že amidy α -aminokyselin obecného vzorce (I) jsou charakterizovány vyšší účinností a/nebo lepším farmakologickým profilem než sloučeniny podle dosavadního stavu techniky.

Sloučeniny podle vynálezu je možno připravit reakcí esterů nebo amidů aminokyselin vzorce II

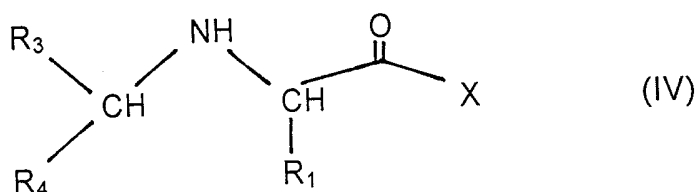


kde R_1 je jak definováno výše a X je skupina alkoxy nebo NHR_2 , kde R_2 je jak definováno výše,

se sloučeninami vzorce III

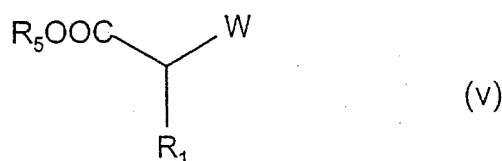


kde Y je atom kyslíku nebo skupina NH, přičemž R_3 a R_4 , které jsou stejné nebo různé, znamenají atom vodíku, nebo spolu s atomem uhlíku, ke kterému jsou připojeny, tvoří jednu ze skupin R nebo R' , s výjimkou nefuzovaného arylu jak definováno výše, za poskytnutí sloučenin vzorce IV,

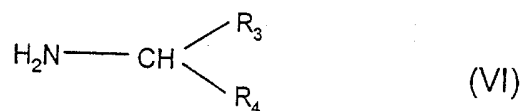


s použitím hydridu jako je borohydrid sodný jako redukčního činidla, při teplotě od 0° do 40 °C.

Sloučeniny vzorce I je také možno alternativně připravit kondenzací alfa-halogenesteru vzorce V



kde R_1 je jak definováno výše a s výhodou H, W je atom halogenu (obecně chlor nebo brom) a R_5 je alkylová skupina, s aminem vzorce VI



kde R_3 a R_4 jsou jak definovány výše, a následnou amidací aminem $\text{R}_2\text{-NH}_2$. Kondenzace sloučeniny V se sloučeninou VI se provádí v organickém rozpouštědle, například acetonitrilu, alkoholu, dimethylformamidu při teplotě od 40° do 140 °C v přítomnosti činidla vázajícího kyselinu, například uhličitanu draselného a s výhodou v přítomnosti katalytických množství jodidu draselného. Amidace se potom provádí výše popsaným postupem.

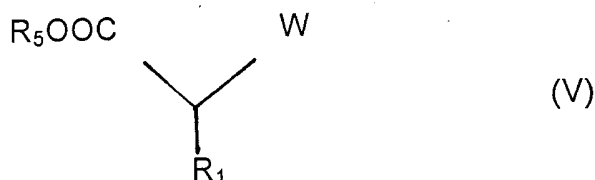
Je také možné kondenzovat alfa-halogenamid s aminem VI.

Pro uvedená terapeutická použití budou sloučeniny I formulovány ve vhodných farmaceutických prostředcích, které jsou dalším předmětem vynálezu.

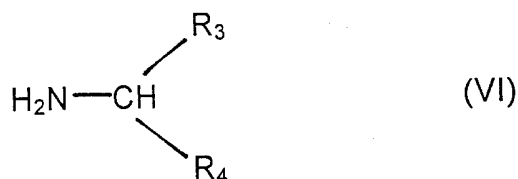
Uvedené prostředky budou typicky obsahovat 1 až 1000 mg aktivní složky, zvláště 10 až 100 mg, a budou podávány jednou nebo vícekrát za den v závislosti na onemocnění, farmakokinetických

rozpouštědle, obecně alkoholu jako je ethanol nebo methanol, s použitím hydridu jako je borohydrid sodný jako redukčního činidla, při teplotě od 0° do 40 °C.

Sloučeniny vzorce I je také možno alternativně připravit kondenzací alfa-halogenesteru vzorce V



kde R_1 je jak definováno výše a s výhodou H, W je atom halogenu (obecně chlor nebo brom) a R_5 je alkylová skupina, s aminem vzorce VI



kde R_3 a R_4 jsou jak definovány výše, a následnou amidací aminem $\text{R}_2\text{-NH}_2$. Kondenzace sloučeniny V se sloučeninou VI se provádí v organickém rozpouštědle, například acetonitrilu, alkoholu, dimethylformamidu při teplotě od 40° do 140 °C v přítomnosti činidla vázajícího kyselinu, například uhličitanu draselného a s výhodou v přítomnosti katalytických množství jodidu draselného. Amidace se potom provádí výše popsaným postupem.

Je také možné kondenzovat alfa-halogenamid s aminem VI.

Pro uvedená terapeutická použití budou sloučeniny I formulovány ve vhodných farmaceutických prostředcích, které jsou dalším předmětem vynálezu.

Uvedené prostředky budou typicky obsahovat 1 až 1000 mg aktivní složky, zvláště 10 až 100 mg, a budou podávány jednou nebo vícekrát za den v závislosti na onemocnění, farmakokinetických vlastnostech zvolené aktivní složky a stavu pacienta (hmotnost, pohlaví, věk).

Prostředky se budou vyrábět běžnými způsoby a s použitím běžných pomocných látek jak se například popisuje v Remington's Pharmaceutical Sciences Habook, Mack. Pub, N. Y, USA, a pacientům budou podávány orálně, parenterálně nebo rektálně. Příklady formulací jsou tablety, kapsle, sirupy, granuláty, sterilní injekční roztoky nebo suspenze, čípky apod.

Vynález dále ilustrují následující příklady:

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

a) Výroba hydrochloridu methylesteru N-(3-fenylpropyl)-L-serinu

Hydrochlorid methylesteru L-serinu (0,9 mol, 14 g), triethylamin (0,9 mol, 9,1 g) a 3-fenylpropionaldehyd (0,9 mol, 12,1 g) se rozpustí v suchém methanolu (370 ml) v Parrově přístroji a hydrogenují se při tlaku 310 kPa v přítomnosti 10 % Pd/C až do skončení pohlcování vodíku.

Katalyzátor je odfiltrován a filtrát je odpařen dosucha ve vakuu. Získaný olej se převede do methylenchloridu (500 ml), organický roztok se promyje vodou a odpaří dosucha ve vakuu za získání bleděžlutého oleje.

Produkt se získá jako hydrochlorid rozpuštěním v ethyletheru (800 ml) a okyselením methanolvým roztokem chlorovodíku. Sraženina se odfiltruje a suší ve vakuu při 45 °C. Výtěžek: 17,5 g (71 %) - teplota tání = 126 - 129 °C.

b) Výroba hydrochloridu (-)-(S)-3-hydroxy-2-(3-fenylpropylamino)-propanamidu (CHF 2803.01)

Produkt získaný v a) (0,06 mol, 17 g) se rozpustí ve vodě (500 ml) a zalkalizuje 10 % vodným roztokem uhličitanu draselného na pH = 8. Volná báze se extrahuje methylenchloridem a odpaří dosucha ve vakuu. Získaný bleděžlutý olej (16,3 g) se rozpustí v methanolu (150 ml). Roztokem se probublává amoniak, za chlazení na -5 °C, na ~15M koncentraci. Hermeticky uzavřený systém se ponechá reagovat 5 dní při pokojové teplotě a potom se odpaří dosucha ve vakuu. Produkt se získá ve formě hydrochloridu rozpuštěním v ethanolu (40 ml), okyselením etherovým roztokem HCl a srážením ethyletherem (500 ml).

Bílá pevná látka filtruje a suší ve vakuu při 40 °C.

Výtěžek: 7,6 g (46,5 %) - teplota tání: 153 - 155 °C

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = -13,5

Příklad 2

a) Výroba methylesteru N-(2-tetralyl)-D-serinu

Kyanoborohydrid sodný (0,07 mol, 4,5 g) se přidá k roztoku β-tetralonu (0,068 mol, 10,5 g) a hydrochloridu methylesteru D-serinu (0,07 mol, 11 g) ve směsi 10/1 ethanol/methanol (550 ml). Směs reaguje při pokojové teplotě 24 hod, odpaří se dosucha ve vakuu, převede do vody (800 ml) a extrahuje ethylacetátem (2 x 500 ml). Spojené organické fáze se extrahují 1N HCl (2 x 300 ml). Vodné fáze se zalkalizují hydrogenuhličitanem sodným a extrahují ethylacetátem (3 x 200 ml). Spojené organické fáze se odpaří dosucha ve vakuu, za získání produktu jako žlutého oleje.

Výtěžek: 12 g (72 %)

b) Výroba (R)-3-hydroxy-2-(1,2,3,4-tetrahydronaftalen-2-(R,S)-ylamino)propanamidu (CHF 2818)

Roztokem methylesteru N-(2-tetralyl)-D-serinu (0,048 mol, 12 g) v methanolu (150 ml) se probublává amoniak při 0 °C, až na koncentraci ~15M. Hermeticky uzavřený systém se ponechá reagovat při pokojové teplotě 120 hod. Roztok se odpaří dosucha ve vakuu a zbylý olej tuhne za tření v petroletheru.

Výtěžek: 9 g (80 %) - teplota tání: 104-115 °C

c) Dělení diastereomerů CHF 2818

Výroba 3-hydroxy-2-(R)-(1,2,3,4-tetrahydronaftalen-2-(S)-ylamino)-propanamidu (CHF 2983)

2-(R)-(1,2,3,4-tetrahydro-2-(R,S)-naftalenylamino)-3-hydroxypropanamid (0,038 mol, 8,8 g) se krystalizuje v ethylacetátu (200 ml) a získaná pevná látka se dvakrát rekrystalizuje v ethylacetátu (200 ml) a nakonec v ethanolu (50 ml). Krystalická bílá látka se suší ve vakuu při 45 °C.

Výtěžek: 1,9 g (výtěžek 43 %) - teplota tání = 142 - 145 °C

$[\alpha]^{589}_D$ (c = 1, methanol) = +92

d) Výroba hydrochloridu 3-hydroxy-2-(R)-(1,2,3,4-tetrahydronaftalen-2-(R)-ylamino)propanamidu (CHF 2982.01)

Matečné louhy z prvních tří krystalizací CHF 2983 se spojí a ponechají při 0 °C 48 hod: sraženina se odfiltruje a filtrát odpaří dosucha ve vakuu. Získaný vosk ztuhne rozetřením v ethyletheru (50 ml) při pokojové teplotě.

Pevná látka se získá ve formě hydrochloridu rozpuštěním v methanolvém roztoku HCl (3M, 20 ml) a odpařením dosucha ve

vakuu, a následnou krystalizací ze směsi 1/1 ethanol/ethylacetát (400 ml). Krystalická bílá látka se suší ve vakuu při 45 °C.

Výtěžek: 1,8 g (36 %) - teplota tání = 226 - 232 °C

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = -105,1

Příklad 3

a) Výroba 3-(4-methylfenyl)propanoylchloridu

Kyselina 3-(4-methylfenyl)propanová (0,055 mol, 9 g) se rozpustí v thionylchloridu (1,008 mol, 120 g). Směs se míchá 30 min při pokojové teplotě, potom vaří 1,5 hod pod zpětným chladičem, odpaří ve vakuu na olej a převede do toluenu a hexanu, vždy s odpařením dosucha.

Výtěžek: 12,4 g

b) Výroba 3-(4-methylfenyl)propanalu

Roztok trifenylfosfinu (0,117 mol, 30,8 g) v acetonu (200 ml) se smíchá v proudu dusíku při pokojové teplotě s Cu(I)bis-(trifenylfosfin)-tetrahydroborátem (0,067 mol, 40,69 g), potom se přikapává v průběhu 45 min roztok 3-(4-methylfenyl)propanoylchloridu (0,055 mol, 10 g) v acetonu (85 ml). Směs se míchá při pokojové teplotě v atmosféře dusíku 1 hod. Vysrážená pevná látka se odfiltruje, promyje acetonem a filtrát se odpaří ve vakuu. Zbytek se rozpustí v chloroformu (340 ml), přidá se chlorid měďný (0,235 mol, 13,38 g) a směs se míchá v proudu dusíku 1 hod při pokojové teplotě. Směs se přefiltruje přes celit, filtrát se odpaří dosucha a získaný zbytek převede do ethyletheru a petroletheru, zfiltruje a odpaří ve vakuu za získání oleje.

Výtěžek: 6,7 g (83 %)

c) Výroba hydrochloridu methylesteru kyseliny 3-hydroxy-2-(3-(4-methylfenyl)-propylamino)propanové

2 % roztok sodíku v methanolu (0,045 mol, 51,7 ml) se přidá k hydrochloridu methylesteru D,L-serinu (0,045 mol, 7 g), rozpustí v methanolu (70 ml), za získání volné báze.

Vytvořený chlorid sodný se vysráží ethyletherem (150 ml) a odfiltruje. Filtrát se odpaří dosucha ve vakuu. Získaný zbytek se rozpustí v methanolu (450 ml), přidá se 3(4-methylfenylpropanal) (0,045 mol, 6,7 g) a nastaví se pH 6 kyselinou octovou, přidá se kyanoborohydrid sodný (0,048 mol, 3 g) a směs se ponechá reagovat při pokojové teplotě 24 hod. Směs se okyselí methanolovým roztokem HCl, odpaří dosucha ve vakuu, převede do methylenchloridu (600 ml), potom zalkalizuje triethylaminem a promyje vodou (3 x 500 ml). Organická fáze se odpaří dosucha ve vakuu a produkt se získá jako hydrochlorid převedením do ethyletheru (400 ml) a okyselením etherovým roztokem HCl. Sražená bílá látka se suší ve vakuu při 30 °C.

Výtěžek: 8,8 g (68 %)

d) Výroba hydrochloridu 3-hydroxy-2-(3-(4-methylfenyl)propylamino)-propanamidu (CHF 2934.01)

Hydrochlorid methylesteru kyseliny 3-hydroxy-2-(3-(4-methylfenyl)propylamino)propanové (0,03 mol, 8,6 g) se rozpustí ve vodě (500 ml), zalkalizuje 10 % vodným uhličitanem draselným na pH = 8. Volná báze se extrahuje methylenchloridem a odpaří dosucha ve vakuu. Získaný bleděžlutý olej (16,3 g) se rozpustí v methanolu (150 ml). Roztokem se probublává amoniak, za chlazení na -5 °C na ~15M koncentraci. Hermeticky uzavřený systém se ponechá reagovat 5 dní při pokojové teplotě a potom se odpaří dosucha ve vakuu. Produkt se získá ve formě hydrochloridu rozpuštěním v ethanolu (40 ml), okyselením etherovým roztokem HCl a vysrážením

ethyletherem (500 ml). Bílá pevná látka se zfiltruje a suší ve vakuu při 40 °C.

Výtěžek: 4,9 g (60 %) - teplota tání = 173 - 176 °C

Příklad 4

a) Výroba 4-fenylbutanoylchloridu

Kyselina 4-fenylbutanová (0,83 mol, 13,57 g) se přidá k thionylchloridu (0,114 mol, 8,27 ml) a ohřeje pro rozpuštění pevné látky. Směs se míchá 30 min při pokojové teplotě, potom vaří pod zpětným chladičem 10 min a nakonec získá jako v příkladu 3a).

Získán 100 % výtěžek (0,083 mol, 15,09 g).

b) Výroba 4-fenylbutanal

Použije se postup jako v 3b) vycházející z 4-fenylbutanoylchloridu (0,083 mol, 15,09 g) za získání 11 g produktu.

c) Výroba hydrochloridu methylesteru kyseliny (R)-3-hydroxy-2-(4-fenylbutylamino)propanové

2 % sodík v methanolu (0,052 mol, 59,8 ml) se přidá k hydrochloridu methylesteru D-serinu (0,052 mol, 8,16 g), rozpuštěnému v methanolu (81,6 ml) pro uvolnění báze. Vytvořený chlorid sodný se vysráží ethyletherem (163 ml) a odfiltruje. Filtrát je odpařen dosucha ve vakuu. Získaný zbytek se rozpustí v methanolu, (150 ml), přidá se 4-fenylbutanal (0,051 mol, 10,69 g) a nastaví se na pH 6 kyselinou octovou, přidá se kyanoborohydrid sodný (0,055 mol, 3,62 g) a reakce se ponechá probíhat při pokojové teplotě 24 hod. Směs se okyselí methanolvým roztokem HCl, odpaří dosucha ve vakuu, převede do methylenchloridu (600 ml) a do 1M roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Fáze se oddělí a vodná fáze se znovu

extrahuje methylenchloridem (3 x 200 ml) a potom se spojené organické fáze promyjí vodou a odpaří dosucha ve vakuu. Produkt se získá jako hydrochlorid, převede do ethyletheru (180 ml) a okyslí etherovým HCl. Bílá sraženina se suší ve vakuu při 30 °C.

Výtěžek: 5,83 g (40 %)

d) Výroba (R)-3-hydroxy-2-(4-fenylbutylamino)propanamidu (CHF 2918)

Hydrochlorid methylesteru kyseliny (R)-3-(hydroxy-2-(4-fenylbutylamino)propanové (0,02 mol, 5,83 g) se rozpustí ve vodě (250 ml) a zalkalizuje 10 % vodným uhličitanem sodným. Volná báze se extrahuje methylenchloridem (3 x 200 ml) a odpaří dosucha ve vakuu. Získaný bleděžlutý olej se rozpustí v methanolu (150 ml). Roztokem se probublává amoniak za chlazení na -5 °C, na koncentraci ~15M. Hermeticky uzavřený systém se ponechá reagovat 5 dní při pokojové teplotě, potom se odpaří dosucha ve vakuu za získání hustého oleje. Produkt se získá jako pevná látka převedením do ethyletheru (25 ml) a srážením hexanem (400 ml). Bílá pevná látka se zfiltruje a suší ve vakuu při 35 °C.

Výtěžek: 4,43 g (92 %) - teplota tání = 59 - 61 °C

Podobnými způsoby jak se popisují v příkladech 1 až 4 byly připraveny sloučeniny 1 až 5, 27, 28, 30, 33, 34, 38, 39, 42 až 44, 46 až 48, 52 a 53 z tabulky 1.

Příklad 5

Výroba (R)-3-hydroxy-2-(3-fenylpropylamino)propanamidu (CHF 2679)

D-serinamid (0,038 mol, 4 g) a 3-fenylpropanal (0,038 mol, 5,1 g) se rozpustí v methanolu (400 ml) v Parrově přístroji a hydrogenují v přítomnosti 10 % Pd/C (3 g) při tlaku 275,6 kPa, až do

ukončení pohlcování vodíku. Katalyzátor se odfiltruje a roztok se odpaří dosucha ve vakuu a převede do ethylacetátu (300 ml) a promyje vodou (2 x 200 ml). Organická fáze se suší a rozpustí v horkém ethyletheru (300 ml) pro sražení produktu jako bílé pevné látky za pomalého odpařování rozpouštědla při pokojové teplotě.

Výtěžek: 3,8 g (45 %) - teplota tání = 76 - 78 °C

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = +13,2°

Podobnými způsoby jak byly popsány v příkladu 5 byly připraveny sloučeniny 6 až 13, 15 až 22, 24, 26, 49 až 51 z tabulky 1.

Příklad 6

Výroba (R)-2-(4-heptylamino)-3-hydroxypropanamidfosfátu (CHF 2870.02)

Roztok D-serinamidu (0,01 mol, 1 g) a 4-heptanonu (0,01 mol, 1,1 g) v methanolu (50 ml) se smísí s 4M methanolvým roztokem HCl (0,0033 mol, 0,85 ml) a kyanoborohydridem sodným (0,005 mol, 0,33 g). Směs se ponechá reagovat při pokojové teplotě 10 dnů, okyslí se methanolvým roztokem HCl na pH = 2, a odpaří dosucha ve vakuu. Zbytek se převede do vody (100 ml), promyje ethyletherem (100 ml), zalkalizuje uhličitanem sodným a extrahuje chloroformem (3 x 100 ml). Získaný olej (1,3 g) se rozpustí v methanolu (50 ml) a přidá se 85 % kyselina fosforečná (0,0065 mol, 0,75 g), a směs se odpaří dosucha ve vakuu za získání produktu jako velmi lehké pevné pěny.

Výtěžek: 2 g (77 %) - teplota tání = 150 - 156 °C

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, voda) = +1,9

Příklad 7a) Výroba methylesteru kyseliny 3-hydroxy-2-(N-methyl-(3-fenylpropyl)amino)propanové

Roztok methylesteru N-(3-fenylpropyl)serinu (6,4 g, 0,027 mol) v methanolu (150 ml) se smísí s 10 % Pd na uhlí (0,7 g) a 40 % formaldehydem (3,0 ml 0,04 mol) rozpuštěným v methanolu (50 ml). Směs se míchá při pokojové teplotě v atmosféře vodíku, za mírného tlaku (275,6 kPa) až do ukončení pohlcování. Směs se zfiltruje a filtrát odpaří ve vakuu. Zbytek se převede do ethyletheru (300 ml), promyje vodou (2 x 200 ml), suší nad síranem sodným a odpaří ve vakuu.

Výtěžek: 6,6 g

b) Výroba hydrochloridu 3-hydroxy-2-(N-methyl-3-fenylpropyl)amino-propanamidu (2968.01)

Postup z příkladu 3b se opakuje.

Roztokem methylesteru kyseliny 3-hydroxy-2-(N-methyl-(3-fenylpropylamino)propanové (0,026 mol, 6,6 g) v methanolu (150 ml) se probublává, při 0 °C, amoniak na koncentraci ~15 M. Systém se ponechá reagovat při teplotě ~80 °C 120 hod v uzavřeném reaktoru. Roztok se odpaří dosucha ve vakuu za získání oleje, ze kterého se oddělí produkt nízkotlakou kapalinovou chromatografií. Získaný olej se převede do absolutního ethanolu a ethylacetátu, potom okyselí etherovým roztokem HCl. Směs se míchá, přidá se ethylether, potom se sraženina filtruje a suší ve vakuu při 40 °C.

Výtěžek: 3,5 g. - teplota tání 112 - 114 °C

Podobným způsobem jak se popisuje v příkladu 7 byly vyrobeny následující sloučeniny:

hydrochlorid (R)-3-hydroxy-2-(N-methyl-2-indanylamino)propanamidu (CHF 3440.01; sloučenina 63)

hydrochlorid (S)-3-hydroxy-2-(N-methyl-2-indanylamino)propanamidu (CHF 3462.01; sloučenina 67).

Příklad 8

a) Výroba methyl 2-(indanylamino)acetátu

Glycinmethylester (0,053 mol, 6,64 g) se rozpustí v absolutním ethanolu (420 ml) a methanolu (42 ml), přidá se 2-indanon (0,053 mol, 7 g), a kyanoborohydrid sodný (0,058 mol, 3,7 g) za míchání v průběhu 40 min. Směs se ponechá za míchání při pokojové teplotě přes noc, odpaří dosucha ve vakuu a zbytek se převede do vody (500 ml) a ethylacetátu (500 ml). Fáze se oddělí a organická fáze se extrahuje 0,1 N roztokem HCl (3 x 200 ml). pH kyselého roztoku se upraví na 8,5 - 9 nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a extrahuje se ethylacetátem (3 x 250 ml). Organický roztok se oddělí, suší nad síranem sodným a odpaří ve vakuu. Získaný produkt se suší ve vakuu při pokojové teplotě.

Výtěžek: 5,8 g (53,4 %)

b) Výroba hydrochloridu 2-(2-indanylamino)acetamidu (CHF 3381.01)

Methyl 2-(indanylamino)acetát (0,028 mol, 5,8 g) se rozpustí v ~15 M roztoku amoniaku v methanolu (150 ml) a udržuje v uzavřené zkumavce při pokojové teplotě několik dnů. Roztok se odpaří dosucha ve vakuu, převede do absolutního ethanolu (2 x 200 ml) a pokaždé odpaří. Olej se převede do methanolu (30 ml) a okyselí na kyselé pH roztokem HCl v suchém methanolu za míchání. Produkt se sráží přidávkem ethyletheru, filtruje a suší ve vakuu při 45 °C.

Výtěžek: 6,05 g (94,6 %) - teplota tání = 212 - 213 °C

Příklad 9Výroba 2-(N-methyl-2-indanylamino)acetamidu (CHF 3488)

2-(2-indanylamino)acetamid (0,016 mol, 3,00 g) se rozpustí v methanolu (60 ml), a za míchání se přidá uhličitan draselný (0,016 mol, 2,18 g). Do směsi se přikapává methyljodid (0,028 mol, 4,14 g) při pokojové teplotě v průběhu 15 min. Směs se ponechá reagovat 4 hod při pokojové teplotě, odpaří se ve vakuu. Získaná pevná látka se převede do vody (100 ml), vodný roztok se extrahuje ethylacetátem (3 x 150 ml). Organický roztok se suší nad síranem sodným, potom odpaří ve vakuu za získání oleje, který se chromatografuje za středního tlaku na silikagelu (eluent chloroform:methanol (90:10)).

Výtěžek: 1,31 g (40 %) - teplota tání = 122-123 °C

Příklad 10a) Výroba methyl (S)-3-hydroxy-2-(2-indanylamino)propanoátu

L-serin methylesterhydrochlorid (0,05 mol, 7,78 g) se rozpustí v absolutním ethanolu (400 ml) a methanolu (40 ml), přidá se 2-indanon (0,05 mol, 6,74 g) a kyanoborohydrid sodný (0,55 mol, 3,64 g) za míchání v průběhu 30 min. Směs se míchá při pokojové teplotě 5 hod, potom se odpaří dosucha ve vakuu a zbytek se převede do vody (150 ml) a ethylacetátu (150 ml). Fáze se oddělí a vodná fáze se dále extrahuje ethylacetátem (200 ml). Spojené organické fáze se extrahují 0,2 N roztokem HCl (2 x 200 ml). Vodný roztok se oddělí, pH se nastaví na 8 uhličitanem sodným a směs extrahuje ethylacetátem (2 x 300 ml). Organický roztok se oddělí, suší nad síranem sodným a odpaří ve vakuu. Získaný roztok se suší ve vakuu při pokojové teplotě.

Výtěžek: 8,4 g (71,4 %)

b) Výroba hydrochloridu (S)-3-hydroxy-2-(2-indanylamino)-propanamidu (CHF 2993.01)

Methyl (S)-3-hydroxy-2-(2-indanylamino)propanoát (0,0357 mol, 8,4 g) se rozpustí v ~12 M amoniaku v methanolu (150 ml) a udržuje v uzavřené zkumavce při pokojové teplotě několik dnů. Roztok se odpaří dosucha ve vakuu za získání oleje, který se převede do methanolu (2 x 250 ml), a vždy odpaří dosucha. Získaný produkt (báze) se převede do ethylacetátu (170 ml) a okyselí na kyselé pH roztokem HCl v 4,75 N suchého ethylacetátu za míchání. Produkt se zfiltruje, krystalizuje z absolutního ethanolu a suší ve vakuu při 40 °C.

Výtěžek: 6,7 g (72,8 %) - teplota tání = 186 - 187 °C

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = +16,6 (hydrochlorid)

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = -24,6 (báze)

Způsoby známými v oboru byla získána mesylátová sůl (CHF 2993.02).

teplota tání 180 - 183 °C

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = + 13,4

Podobným způsobem popsáním v příkladu 10 byly připraveny sloučeniny 41, 57, 61, 62, 69, 72, 75 a 76 z tabulky 1.

Příklad 11

Výroba hydrochloridu (S)-2-(2-indanylamino)-3-(2-methylpropanoxy)propanamidu (CHF 3542.01)

Hydrochlorid (S)-3-hydroxy-2-(2-indanylamino)-propanamidu (CHF 2993.01, 0,006 mol, 1,6 g) se rozpustí v kyselině trifluoroctové (3,75 ml) a přidá se po kapkách 2-methylpropanoylchlorid (0,022 mol, 2,3 ml). Po 2 hod při pokojové teplotě se roztok odpaří ve vakuu a získaný olej se převede do ethyletheru (100 ml). Produkt se zfiltruje,

rozetře v ethyletheru (50 ml) a oddělí filtrací. Pevná látka se suší ve vakuu při pokojové teplotě.

Výtěžek: 1,8 g (90 %) - teplota tání = 171 - 174 °C

Podobným způsobem popsáním v příkladu 11 byly vyrobeny následující sloučeniny:

hydrochlorid (S)-3-acetyloxy-2-(3-fenylpropylamino)propanamidu (CHF 3023.01; sloučenina 45);

hydrochlorid (S)-3-acetyloxy-2-(2-indanylamino)propanamidu (CHF 3519.01; sloučenina 74);

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = +29,8

hydrochlorid (S)-3-benzoyloxy-2-(2-indanylamino)propanamidu (CHF 3548.01; sloučenina 78)

Příklad 12

Výroba hydrochloridu (S)-3-hydroxy-2-(2-indanylamino)-N-methylpropanamidu (CHF 3422.01)

Methylester N-(2-indanyl)-(S)-serinu (0,025 mol, 5,95 g) se rozpustí v 8,03 M roztoku methylaminu v ethanolu (155 ml) v uzavřené zkumavce. Po 1 dnu se roztok odpaří ve vakuu a zbylý olej se převede do methanolu (3 x 100 ml), petroletheru (frakc. 40 -70, 100 ml) a vždy se odpaří. Získaný olej převedený do petroletheru (250 ml), ztuhne za míchání. Zfiltrovaná pevná látka (~5,42 g) se rozpustí ve vlažném ethylacetátu (250 ml) a přidá se roztok HCl v suchém ethylacetátu (3,5 M) za míchání až do znatelně kyselého pH. Produkt se zfiltruje, opakovaně promyje ethyletherem (150 ml) a suší v sušárně ve vakuu.

Výtěžek: 5,33 g (77,9 %) - teplota tání = 190,5 - 192 °C

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, DMSO) = +18

$[\alpha]^{589}$ (c = 1, methanol) = -2

Podobným způsobem jak se popisuje v příkladu 12 byly vyrobeny sloučeniny 55, 56, 58, 60, 64 až 66.

Příklad 13

a) Výroba 5,6-dimethoxy-2-hydroxyiminoindanonu

5,6-dimethoxy-1-indanon (0,078 mol, 15 g) se rozpustí v absolutním ethanolu (550 ml), teplota se udržuje na 50 °C, a přidá se izoamylnitrit (0,086 mol, 11,9 ml) a konc. HCl (11,9 ml). Po několika minutách se vysráží produkt. Reakce se udržuje při 50 °C další 3 hod, potom se ochladí na pokojovou teplotu a pevná látka se filtruje za promývání absolutním ethanolem (50 ml) a ethyletherem (100 ml). Produkt se suší v sušárně ve vakuu při pokojové teplotě.

Výtěžek: 16,3 g (94,4 %)

b) Výroba 5,6-dimethoxy-2-indanylaminu

K roztoku 5,6-dimethoxy-2-hydroxyimino-1-indanonu (0,27 mol, 6 g) v ledové kyselině octové (500 ml) se přidá 96 % kyselina sírová (3,3 ml) a 10 % Pd/C (1,5 g). Směs se hydrogenuje v Parrově přístroji (pokojová teplota, 241,2 kPa). Když ustane absorpce vodíku, katalyzátor se zfiltruje přes celit, promyje methanolem (70 ml). Roztok se odpaří dosucha, za získání pevné látky, která se rozpustí ve vodě a potom extrahuje ethylacetátem (2 x 70 ml). Vodný roztok se zalkalizuje 1 M roztokem hydroxidu sodného na pH = 8 - 8,5. Produkt se extrahuje methylenchloridem (2 x 70 ml). Organický roztok se suší nad síranem sodným a odpaří ve vakuu za získání pevného produktu.

Výtěžek: 4,6 g (88,5 %)

c) Výroba 2-(5,6-dimethoxy-2-indanylamino)-acetamidu (CHF 3511)

5,6-dimethoxy-2-indanylamin (0,024 mol, 4,6 g) a hydrogenuhličitan sodný (0,026 mol, 2,2 g) se přidají k roztoku chloracetamidu (0,024 mol, 2,2 g) v absolutním ethanolu (100 ml) a vaří pod zpětným chladičem 10 hod. Směs se zfiltruje při pokojové teplotě a roztok odpaří dosucha. Získaný olej se chromatografuje za středního tlaku přes silikagel (eluent: methylenchlorid/methanol - 90/10).

Výtěžek: 1,95 g (32,7 %) - teplota tání = 135 - 138 °C

Podobným způsobem jak se popisuje v příkladu 13 byly vyrobeny následující sloučeniny:

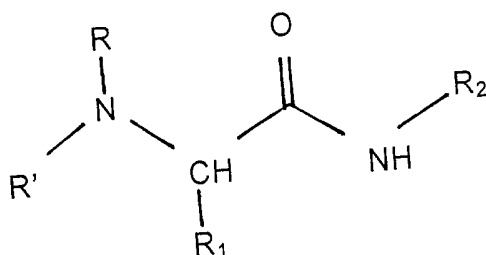
hydrochlorid 2-(5-fluor-2-indanylamino)acetamidu (CHF 3480.01);

hydrochlorid 2-(5,6-difluor-2-indanylamino)acetamidu (CHF 3518.01).

V následující tabulce 1 se uvádějí zkratky a strukturní vzorce sloučenin z příkladů i dalších sloučenin získaných stejnými způsoby popsanými výše.

Tabulka 1

Deriváty amidů α -aminokyselin - struktura



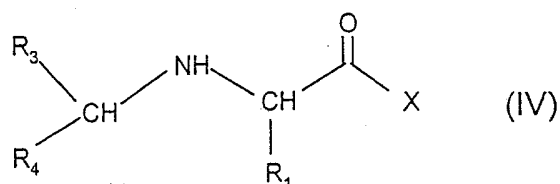
R' je H, pokud není uvedeno jinak.

Sloučenina	R	R ₁	R ₂	Ster.	No.
CHF 2043	(CH ₂) ₆ CH ₃	CH ₂ OH	H	RS	1
CHF 2088	(CH ₂) ₄ CH ₃	CH ₂ OH	H	R	2
CHF 2102	(CH ₂) ₆ CH ₃	CH ₂ OH	H	R	3
CHF 2452.01	(CH ₂) ₄ CH ₃	CH ₂ OH	H	S	4
CHF 2525.01	(CH ₂) ₆ CH ₃	CH ₂ OH	H	S	5
CHF 2545	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ OH	H	R	6
CHF 2560	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ OH	H	S	7
CHF 2571	(CH ₂) ₆ CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H	RS	8
CHF 2583	CH ₂ -cyklohexyl	CH ₂ OH	H	R	9
CHF 2597	(CH ₂) ₂ CH ₃	CH ₂ OH	H	S	10
CHF 2617	(CH ₂) ₆ CH ₃	CH ₂ OH	(CH ₂) ₆ - -CH ₃	R	11
CHF 2621.01	CH(CH ₃)- -(CH ₂) ₅ CH ₃	CH ₂ OH	H	R	12
CHF 2678	(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ OH	H	R	13
CHF 2679	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	CH ₂ OH	H	R	14
CHF 2721	(CH ₂) ₅ CH ₃	CH ₂ OH	H	RS	15
CHF 2722	(CH ₂) ₇ CH ₃	CH ₂ OH	H	RS	16
CHF 2723	(CH ₂) ₈ CH ₃	CH ₂ OH	H	RS	17
CHF 2739.01	CH ₂ -CH-CH-C ₂ H ₅ CH ₃ CH ₃	CH ₂ OH	H	RS	18
CHF 2750	CH(CH ₂) ₅ CH ₃ C ₂ H ₅	CH ₂ OH	H	RS RS	19

Sloučenina	R	R ₁	R ₂	Ster.	No.
CHF 2751	CH(CH ₂) ₇ CH ₃	CH ₂ OH	H	RS RS	20
CHF 2768	1-(norbornyl- enyl)ethyl	CH ₂ OH	H	RS endo	21
CHF 2769	1-(norbornyl- enyl)etyl	CH ₂ OH	H	RS exo	22
CHF 2803.01	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	CH ₂ OH	H	S	23
CHF 2812	(CH ₂) ₃ C ₆ H ₅	CH ₂ OH	CH ₃	R	24
CHF 2818	1,2,3,4-tetra- hydro-2- naftalenyl	CH ₂ OH	H	R RS	25
CHF 2824	CH-(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅ CH ₃	CH ₂ OH	H	R RS	26
CHF 2847.01	CH-CH ₂ C ₆ H ₅ CH ₃	CH ₂ OH	H	R S	27
CHF 2865.01	(CH ₂) ₂ -CHC ₆ H ₅ CH ₃	CH ₂ OH	H	R RS	28
CHF 2870.02	CH(CH ₂ CH ₂ CH ₃) ₂	CH ₂ OH	H	R	29
CHF 2880.01	CH-C ₆ H ₅ CH ₃	CH ₂ OH	H	R RS	30
CHF 2918	(CH ₂) ₄ -C ₆ H ₅	CH ₂ OH	H	R	31
CHF 2934.01	3-(4-methyl)- fenyl)propyl	CH ₂ OH	H	RS	32
CHF 2948.01	3-(fluorfenyl)- propyl	CH ₂ OH	H	RS	33

Sloučenina	R	R ₁	R ₂	Ster.	No.
CHF 2967.01	3-(4-chlor-fenyl)propyl	CH ₂ OH	H	RS	34
CHF 2968.01	(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅ R' = CH ₃	CH ₂ OH	H	RS	35
CHF 2982.01	1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl	CH ₂ OH	H	R R	36
CHF 2983.01	"	CH ₂ OH	H	R S	37
CHF 2990.01	"	CH ₂ OH	H	S S	38
CHF 2991	"	CH ₂ OH	H	S R	39
CHF 2993.01	2-indanyl	CH ₂ OH	H	S	40
CHF 2996	"	CH ₂ OH	H	R	41
CHF 3009.01	1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl	CH ₃	H	S RS	42
CHF 3010.01	"	CH ₃	H	R RS	43
CHF 3011.01	2-naftalenyl-methyl	CH ₂ OH	H	RS	44
CHF 3023.01	(CH ₂) ₃ -C ₆ H ₅	CH ₂ OAc	H	S	45
CHF 3066	6-meo-1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl	CH ₂ OH	H	R RS	46
CHF 3091.01	2-indanyl	CH ₃	H	RS	47
CHF 3107.01	3-(4-CF ₃ -fenyl)propyl	CH ₂ OH	H	R	48

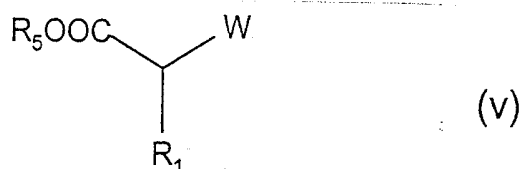
kde Y je atom kyslíku nebo skupina NH, zatímco skupiny R_3 a R_4 spolu s atomem uhlíku, ke kterému jsou připojeny, vytvářejí skupinu R, jak definováno v nároku 1, za poskytnutí sloučenin vzorce IV



které potom mohou být převedeny na sloučeniny vzorce I pomocí jedné nebo více z následujících reakcí:

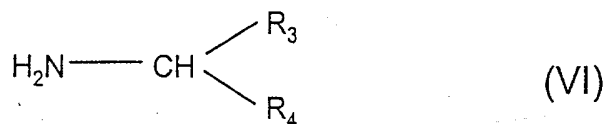
- jestliže X je skupina alkoxy, reakcí s amoniakem;
- N-alkylací;
- převedením na sůl a/nebo rozdělením na optické izomery;
- odstraněním jakékoliv přítomné ochranné skupiny.

3. Způsob výroby sloučeniny podle nároku 1, vyznačující se tím, že zahrnuje kondenzaci α -halogenesteru vzorce V



20.05.03

kde R_1 je jak definováno v nároku 1 a s výhodou atom vodíku, W je atom halogenu, obecně chloru nebo bromu, a R_5 je alkylová skupina, s aminem vzorce VI



kde R_3 a R_4 jsou jak definovány v nároku 2, a následnou amidací amoniakem, za poskytnutí sloučenin vzorce I.

4. Farmaceutické prostředky, vyznačující se tím, že jako účinnou složku obsahují sloučeninu podle nároku 1 ve směsi s vhodnými pomocnými látkami nebo nosiči.
5. Použití sloučenin podle nároku 1 pro výrobu farmaceutických prostředků pro léčení neurodegenerativních onemocnění.

Zastupuje:


JUDr. ZDENKA KOREJZOVÁ
ADVOKÁTKA

elektrošoku (MES). Tento model se široce používá pro stanovení účinku antiepileptických prostředků proti generalizovaným a částečným záchvatům. Tato studie byla prováděna u krys i u myši použitím experimentálního postupu popsaného v W. Löscher a další, *Epilepsy Res.*, 2 (1988), 145 - 181. Ve stručnosti, střídavý proud 60 Hz (myši 50 mA, krysy 150 mA) byl dodáván 0,2 s korneálními elektrodami pomocí elektrického stimulátoru. Protikřečová schopnost sloučeniny byla testována po 60 min a až do 180 min od podání (p.o.) vypočtením hodnoty ED_{50} pro potlačení tonického natažení zadní končetiny. Byly testovány skupiny 10 zvířat na každou dávku a hodnota ED_{50} byla vypočtena z křivky závislosti účinku na dávce podle Litchfield a Wilcoxon (*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 96 (1949), 99 - 113).

Na MES modelu u krysy byl vyhodnocován pouze časový průběh protikřečového účinku. Byly testovány skupiny po 10 krysách, kterým byla podána ekviaktivní dávka 30, 60, 120, 240, 360 a 480 min před elektrošoky. Potom byl vyhodnocen vrchol protikřečového účinku a délka trvání působení.

V další řadě experimentů provedených u myši byla testována neurotoxicita sloučenin hodnocená jako měřítko nesprávné motorické funkce použitím testu na horizontálním sítu (L. L. Coughenour a další, *Pharmacol. Bioch. a Behav.*, 6 (1977), 351 - 353). V tomto testu jsou myši umístěny jednotlivě na sítu z krouceného drátu, které je umístěno vodorovně na kovové tyči, která se potom otočí o 180° tak, že jsou myši na spodní části síta. Nesprávná motorická funkce se pozoruje u těch zvířat, která ze síta spadnou nebo nešplhají na horní část síta. Střední neurologická toxická dávka (TD_{50}) se potom vypočte způsobem uvedeným výše. Poměr TD_{50} a ED_{50} označuje terapeutický index (T.I.) pro každou sloučeninu. T.I. se používá pro užitečné oddělení mezi neurotoxicitou a antiepileptickou aktivitou. Větší hodnoty T.I. budou ukazovat na lepší oddělení výše uvedených účinků a dobrý profil protikřečových účinků.

V myším modelu MES všechny testované sloučeniny ukázaly schopnost protikřečového účinku vyjádřenou v mol lepší než u milacemidu a/nebo valproátu sodného. Hodnoty ED_{50} se pohybovaly mezi 1,2 a 0,5 mmol/kg s poměrem účinku od 4,5 do 35 vzhledem k milacemidu a od 1 do 6,7 vzhledem k valproátu sodnému.

Vyhodnocení časového průběhu protikřečového účinku ukázalo, že některé sloučeniny se rychle absorbovaly s maximem účinku 30 min po podání, zatímco u jiných sloučenin byly pozorovány zpožděné účinky, které měly maximum dokonce až 3 hod po podání.

Společnou vlastností mnoha sloučenin bylo dobré přetrvávání účinků s potlačením křečí stejným nebo větším než 50 %, které bylo se statistickou významností větší než 3 hod po podání.

Trvání působení bylo delší než u milacemidu, kde dosahovalo přibližně 1 hodinu.

Výsledky testu MES u myší významnějších sloučenin podle vynálezu 60 min jsou uvedeny v následující tabulce 2.

Účinky sloučenin byly porovnávány s účinky dvou sloučenin podle dosavadního stavu techniky: FCE 28245, prototypem nové řady serinových derivátů s protikřečovými účinky a TEVA sloučeninou 2 (1-aminoindanový derivát), popisovanou v WO 94/22808 a ve WO 95/18617.

Sloučenina (CHF)	ED ₅₀ MES (mg/kg p.o.)	TD ₅₀ vodorovné síto (mg/kg p.o.)	T. I.
2993	44	1172	27
2996	34	>1500	44
2983	43	1300	30
2991	38	1099	29
3431	22	251	11
3440	35	689	20
3381	21	274	13
FCE 28245	180	1670	9
TEVA slouč. 2	38	299	8

T.I.: terapeutický index

Všechny sloučeniny byly podávány ve formě solí s HCl. Jednotlivé enantiomery 2-aminoindanových a aminotetralinových derivátů vykazaly výrazný protikřečový účinek. (S)-hydroxyl-2-aminoindanový derivát CHF 2993 a jeho enantiomer (R) CHF 2996 byly v testu MES stejně účinné. Druhá uvedená sloučenina měla také vyšší T.I. (44) pro svou nízkou hodnotu neurotoxicity (>1500 mg/kg p.o.). Zavedení methylové skupiny v části CHF 2993 vedlo k vytvoření sloučeniny (CHF 3440) se stejnými protikřečovými účinky, ale s vyšší neurotoxicitou. (TD₅₀ = 689). Naopak jak (S) 2-(2-indanylamino)propionamidové, tak i 2-(2-indanylamino)acetamidové deriváty CHF 3431 a CHF 3381 měly vyšší účinnost při inhibici MES, ale vyšší neurotoxicitu než výše uvedené sloučeniny. Dobrý profil protikřečové účinnosti byl také pozorován u 3-hydroxy-2-

tetralinaminových derivátů CHF 2983 (R,S enantiomer) a CHF2991 (S,R enantiomer).

Všechny testované sloučeniny měly přibližně 3 - 4 krát vyšší účinnost než FCE 28245, chemicky 3-hydroxy-2-(4-(3-fenylpropyloxy)-benzylamino)propanamidmethansulfonát.

Není také bez významu, že 2-aminoindanový derivát CHF 3381 měl vyšší T.I. než 1-aminoindanová sloučenina 2 podle dosavadního stavu techniky známá z WO 95/18617, chemicky (S)-2-(indanylamino)acetamid. Ve skutečnosti měla 2-aminoindanová sloučenina podle vynálezu větší protikřečové účinky než 1-aminoindan podle dosavadního stavu techniky. Při celkovém pohledu na uvedené výsledky se zdá, že třída 2-aminoindanových sloučenin podle vynálezu měla menší poruchy motorické koordinace než sloučenina podle dosavadního stavu techniky.

Navíc k testu MES u myši byly některé sloučeniny také testovány v testu MES na krysách a na chemickém modelu tonických křečí indukovaném bicuculinem podle postupu popsaného v Swinyard E. A. a další, Antiepileptic Drugs, 3. vydání, Raven Press, New York (1989). V tomto modelu byly myši pozorovány 30 min po podání dávky bicuculinu (s.c.), která indukovala u 97 % zvířat tonické křeče. U zvířat ošetřených testovanými sloučeninami se bere jako koncový bod odstranění složky natažení zadní končetiny, což ukazuje na to, že testované látky mají schopnost zabránit rozšíření záchvatu.

Jako referenční sloučenina byl použit FCE 26743 (S)-2-(4-(3-fluorbenzyloxy)benzylamino)propanamid popisovaný v EP-B1-0400495.

Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce 3:

Sloučenina (CHF)	ED ₅₀ MES (mg/kg p.o.)	Maximum účinku (hod)*	Doba působení (hod)*	ED ₅₀ bicuculin, myš (mg/kg p.o.)
2993	31	3	6	65
2996	32	1	2	n.t.
2983	19	1	2	62
FCE 26743	11	0,5	1	20

*: čas maximálního účinku

**: čas, po který je ochrana statisticky významná

n. t.: nebylo testováno

U testu MES CHF 2993, CHF 2996 a FCE 26743 se ukázala podobná antikřečová účinnost jako byla nalezena ve stejném modelu u myši. V tomto testu měla látka CHF 2983 vyšší účinnost s hodnotou ED₅₀ 19 mg/kg p.o, což je méně než hodnota udávaná v testu MES u myši. Analýza kinetiky farmakologických účinků ukázala, že CHF 2993 měla delší dobu působení (6 hod). Ve všech případech bylo trvání účinku všech testovaných sloučenin delší než u referenční sloučeniny FCE 26743 (1 hod). U křečí indukovaných bicuculinem u myši byla hodnota ED₅₀ pro CHF 2993, CHF 2983 a FCE 26743 65, 62, popřípadě 20 mg/kg p.o. I když byly tyto hodnoty vyšší než hodnoty získané v testu MES u myši, jsou z hlediska protikřečového účinku MES tyto hodnoty stejného řádu.

Při celkovém pohledu na tyto výsledky je možno uzavřít, že popisované sloučeniny měly významnou protikřečovou účinnost v modelu MES u myši i u krysy, stejně jako v modelu křečí indukovaných bicuculinem u myši. Účinnost těchto sloučenin u myši byla téměř podobná účinku některých standardních antiepileptických

léčiv včetně fenytoinu, karbamazepinu, a alespoň čtyřikrát vyšší než u valproátu sodného, u kterých údaje z literatury ukazují na menší terapeutické indexy ve srovnání s hodnotami zjištěnými v předkládaných výzkumech.

Sloučeniny podle vynálezu je možno podávat v řadě dávkovacích forem, například orálně ve formě tablet, kapslí, cukrem nebo filmem potahovaných tablet, kapalných roztoků; rektálně ve formě čípků, parenterálně, například intramuskulárně nebo intravenózní injekcí nebo infuzí. Terapeutický režim pro různé klinické příznaky je nutno přizpůsobit typu nebo patologii, přičemž je třeba brát jako obvykle v úvahu také cestu podávání, formu, ve které je podávána sloučenina a věk, hmotnost a stav pacienta.

V jednom provedení byla terapeuticky účinná dávka od přibližně 1 mg do přibližně 1000 mg, s výhodou od přibližně 10 mg do přibližně 300 mg.

Tyto dávkovací režimy mohou být samozřejmě upraveny pro dosažení optimálního terapeutického účinku.

Povaha farmaceutických prostředků obsahujících sloučeniny podle vynálezu spolu s farmaceuticky přijatelnými nosiči nebo ředivy bude samozřejmě záviset na požadované cestě podávání.

Prostředky mohou být formulovány obvyklým způsobem s použitím běžných složek. Sloučeniny podle vynálezu mohou být například podávány ve formě vodných nebo olejových roztoků nebo suspenzí, tablet, pilulek, želatinových kapslí, sirupů, kapek nebo čípků.

Pro orální podávání jsou farmaceutickými prostředky s obsahem sloučenin podle vynálezu s výhodou tablety, pilulky nebo želatinové kapsle, které obsahují aktivní látku spolu s ředivy jako je laktóza, dextróza, sacharóza, mannitol, sorbitol, celulóza; kluzné látky, např. oxid křemičitý, talek, kyselina stearová, stearan vápenatý nebo

hořečnatý a/nebo polyethylenglykoly; nebo také mohou obsahovat pojiva jako škroby, želatinu, methylcelulózu, karboxymethylcelulózu, arabskou gumu, tragakant, polyvinylpyrrolidon; rozvolňovadla jako jsou škroby, kyselina alginová, algináty, sodná sůl glykolátu škrobu; šumivé směsi; barviva; sladidla; smáčedla jako je lecithin, polysorbáty, laurysulfáty; a obecně netoxické a farmakologicky neaktivní látky používané ve farmaceutických prostředcích. Uvedené farmaceutické prostředky je možno vyrábět známým způsobem, například mísením, granulací, tabletováním, potahováním cukrem nebo potahováním filmem.

Kapalnými disperzemi pro orální podávání mohou být např. sirupy, emulze a suspenze.

Sirupy mohou obsahovat nosič, například sacharózu nebo sacharózu s glycerolem a/nebo mannitolem a/nebo sorbitolem. Suspenze a emulze mohou obsahovat nosič, například přírodní gumu, agar, alginát sodný, pektin, methylcelulózu, karboxymethylcelulózu nebo polyvinylalkohol. Suspenze nebo roztoky pro intramuskulární injekce mohou obsahovat spolu s aktivní sloučeninou farmaceuticky přijatelný nosič, například sterilní vodu, olivový olej, ethyloleát, glykoly, např. propylenglykol, a v případě potřeby vhodné množství lidokainhydrochloridu.

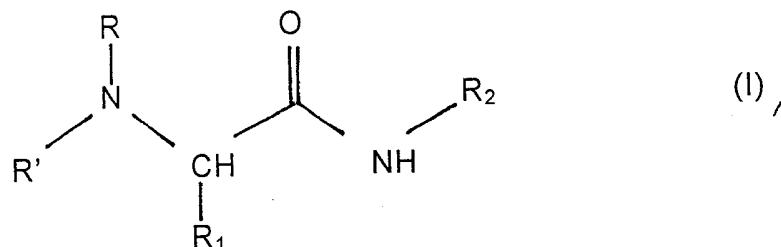
Roztoky pro intravenózní injekce nebo infuze mohou obsahovat nosič, například sterilní vodu nebo mohou být s výhodou ve formě sterilních izotonických vodných roztoků solí.

Čípky mohou obsahovat spolu s aktivní sloučeninou farmaceuticky přijatelný nosič, např. kakaové máslo, polyethylenglykol, a povrchově aktivní látku na bázi esteru polyoxyethylensorbitan mastné kyseliny nebo lecitin.

Zastupuje:

PATENTOVÉ NÁROKY

1. *obecného* Sloučeniny vzorce I



kde:

R je alkyl s přímým nebo rozvětveným řetězcem; cykloalkylalkyl; arylalkyl nebo fenylalkyl popřípadě substituovaný v kruhu skupinou alkyl, halogen nebo haloalkyl; fuzovaný nebo nefuzovaný aryl popřípadě substituovaný skupinou alkyl, alkoxy, halogen nebo haloalkyl;

R' je atom vodíku; alkyl; fenyl; fenylalkyl;

R₁ je popřípadě acylovaný C₁-C₄ hydroxyalkyl nebo fenylalkyl, kde R je alkyl, cykloalkyl, arylalkyl;

R₁ je atom vodíku, C₁-C₄ alkyl, popřípadě acylovaný C₁-C₄ hydroxyalkyl nebo fenylalkyl, jestliže R je aryl;

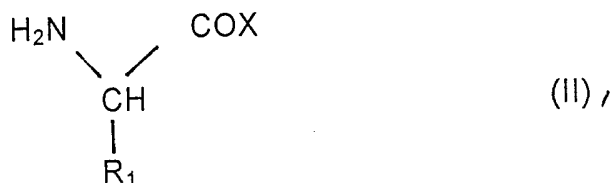
R₂ je atom vodíku; alkyl; fenyl; fenylalkyl.

2. Sloučeniny podle nároku 1, kde:

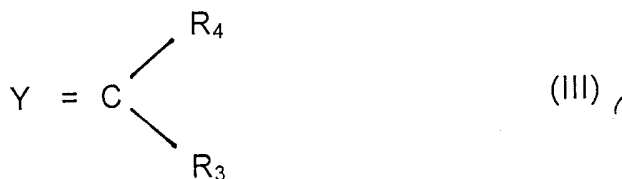
R₁ je CH₂OH; R je C₃-C₁₀ alkyl, fenyl-(C₂-C₄)-alkyl, nebo 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl nebo 2-indanyl popřípadě substituovaný skupinou alkyl, alkoxy, halogen nebo haloalkyl;

R' je atom vodíku nebo methyl a R₂ je atom vodíku.

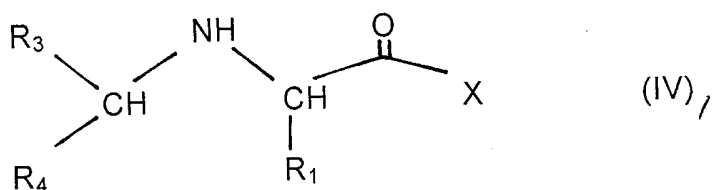
3. Sloučeniny podle nároku 1, kde R_1 je atom vodíku nebo methyl, R je 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl nebo 2-indanyl popřípadě substituovaný skupinou alkyl, alkoxy, halogen nebo haloalkyl a R' a R_2 znamenají atom vodíku.
4. Sloučeniny podle nároku 1, kde R_1 je CH_2OH ; R je fenyl- (C_2-C_3) -alkyl, 1,2,3,4-tetrahydro-2-naftalenyl, 2-indanyl; R' a R_2 znamenají atom vodíku.
5. Způsob výroby sloučenin podle některého z nároků 1 až 4, vyznačující se tím, že zahrnuje reakci esterů nebo amidů aminokyselin ^{obecného} vzorce II



kde R_1 je jak definováno výše a X je skupina alkoxy nebo NHR_2 , kde R_2 je jak definováno výše, ^{obecného} se sloučeninami vzorce III



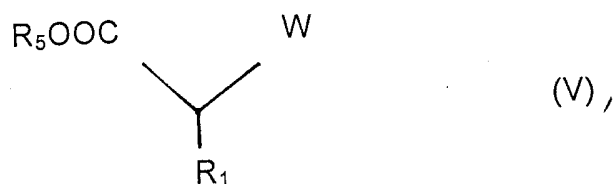
kde Y atom kyslíku nebo skupina NH , zatímco skupiny R_3 a R_4 , které jsou stejné nebo různé, znamenají atom vodíku, nebo spolu s atomem uhlíku ke kterému jsou připojeny vytvářejí jednu ze skupin R nebo R' s výjimkou nefuzovaného arylu, jak definováno výše, ^{obecného} za poskytnutí sloučenin vzorce IV



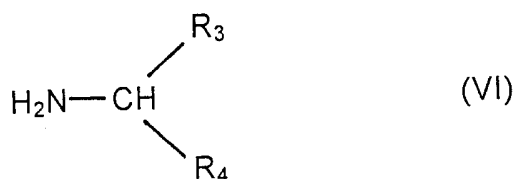
obecně
které potom mohou být převedeny na sloučeniny vzorce I pomocí jedné nebo více z následujících reakcí:

- jestliže X je skupina alkoxy, reakcí s aminem vzorce $\text{R}_2\text{-NH}_2$;
- N-alkylací;
- acylací jakékoliv hydroxylové skupiny přítomné v R_1 ;
- převedením na sůl a/nebo rozdělením na optické izomery;
- odstraněním jakékoliv přítomné ochranné skupiny.

6. Způsob výroby sloučeniny podle některého z nároků 1 až 4, vyznačující se tím, že zahrnuje kondenzaci α -halogenesteru vzorce V



kde R_1 je jak definováno výše a s výhodou atom vodíku, W je atom halogenu (obecně chloru nebo bromu) a R_5 je alkylová skupina, s aminem vzorce VI



kde R_3 a R_4 jsou jak definovány výše, a následnou amidací aminem R_2-NH_2 , kde R_2 je, jak definováno výše, za poskytnutí sloučenin (I).

7. Farmaceutické prostředky, vyznačující se tím, že jako účinnou složku obsahují sloučeninu podle některého z nároků 1 až 4 ve směsi s vhodnými pomocnými látkami nebo nosič.
8. Použití sloučenin podle některého z nároků 1 až 4 pro výrobu farmaceutických prostředků pro léčení neurodegenerativních onemocnění.

Zastupuje: