

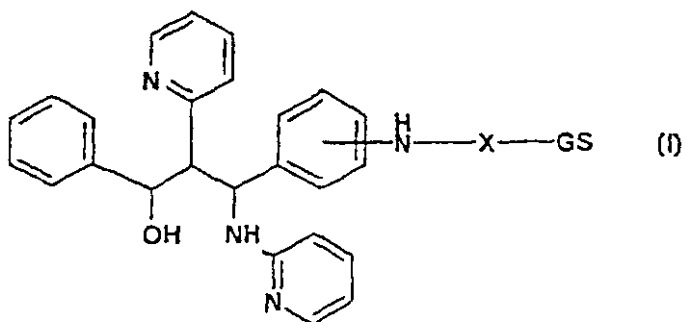
INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International patent classification ⁷ : C07J 43/00, C07K 5/065, A61K 31/575	A1	(11) International publication number: WO 00/20437 (43) International publication date: 13 April 2000 (13.04.00)
(21) International application number: PCT/EP99/06930 (22) International filing date: 18 September 1999 (18.09.99) (30) Data relating to the priority: 198 45 403.1 2 October 1998 (02.10.98) DE (71) Applicant (for all designated States except US): AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE). (72) Inventors; an: STENGELIN, Siegfried; Sachsenring 27, D-65817 Eppstein (DE). ENHSEN, Alfons; Birkenweg 4, D-64572 Büttelborn (DE). GLOMBIK, Heiner; Am Lotzenwald 42, D-65719 Hofheim (DE). KRAMER, Werner; Henry-Moisand-Strasse 19, D-55130 Mainz-Laubenheim (DE). FALK, Eugen; Völklingerweg 15, D-60529 Frankfurt am Main (DE).		(81) Designated states: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), Eurasian Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Published With the International Search Report. Before expiry of the period provided for amending the claims, will be republished if such amendments are received.

As printed

(54) Title: PROPANOLAMINE DERIVATIVES LINKED WITH BILE ACID USED FOR TREATING DISORDERS OF THE LIPID METABOLISM

(54) Bezeichnung: MIT GALLENSÄUREN VERKNÜPFTE PROPANOLAMINDERIVATE ZUR BEHANDLUNG VON LIPIDSTOFFWECHSELSTÖRUNGEN



卷号: 00/0494

页码: 5760

期限: 请于3.20前送

(57) Abstract

The invention relates to substituted propanolamine derivatives and their pharmaceutically acceptable salts and physiologically functional derivatives. The invention relates to compounds of formula (I), wherein the radicals have the defined meanings, as well as their physiologically acceptable salts, physiologically acceptable derivatives and methods for their production. The compounds are suitable, for example, as hypolipidemic agents.

(57) Zusammenfassung

Mit Gallensäuren verknüpfte Propanolaminderivate, Verfahren zu deren Herstellung, diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung. Die Erfindung betrifft substituierte Propanolaminderivate und deren pharmazeutisch verträgliche Salze und physiologisch funktionelle Derivate. Es werden Verbindungen der Formel (I), worin die Reste die angegebenen Bedeutungen haben, sowie deren physiologisch verträgliche Salze, physiologisch funktionelle Derivate und Verfahren zu deren Herstellung beschrieben. Die Verbindungen eignen sich z.B. als Hypolipidämika.

Beschreibung

MIT GALLENÄUREN VERKNÜPFTE PROPANOLAMINDERIVATE ZUR BEHANDLUNG VON LIPIDSTOFFWECHSELSTÖRUNGEN

5

Die Erfindung betrifft substituierte Propanolaminderivate und deren pharmazeutisch verträgliche Salze und physiologisch funktionelle Derivate.

Es sind bereits mehrere Wirkstoffklassen zur Behandlung von Adipositas und von Lipidstoffwechselstörungen beschrieben worden:

10

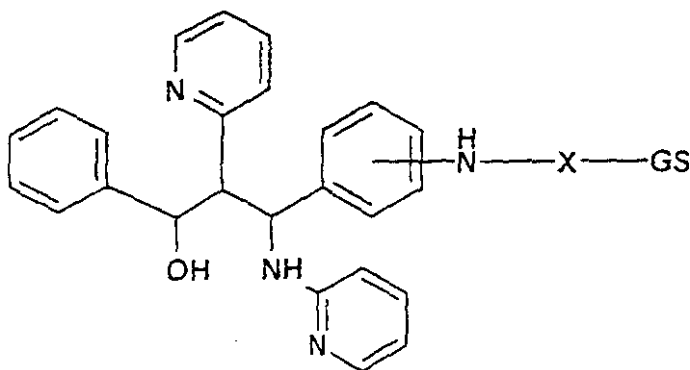
- polymere Adsorber, wie z.B. Cholestyramin
- Benzothiazepine (WO 93/16055)
- Gallensäuredimere und -konjugate (EP 0 489 423)
- 4-Amino-2-ureido-pyrimidin-5-carbonsäureamide (EP 0 557 879)

15

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, weitere Verbindungen zur Verfügung zu stellen, die eine therapeutisch verwertbare hypolipidämische Wirkung entfalten.

Die Erfindung betrifft daher Verbindungen der Formel I,

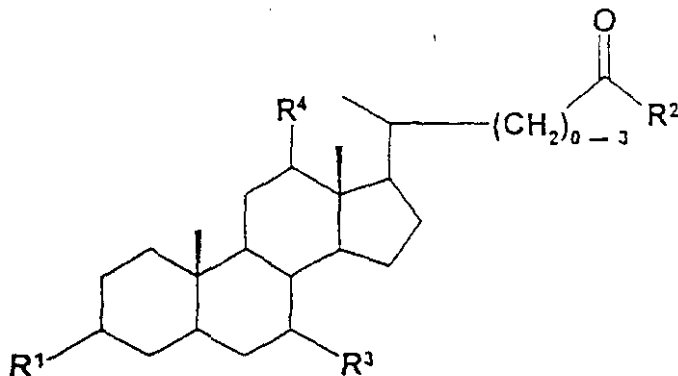
20



I

worin bedeuten

GS eine Gallensäuregruppe der Formel



R¹ eine Bindung zu X, OH;

5

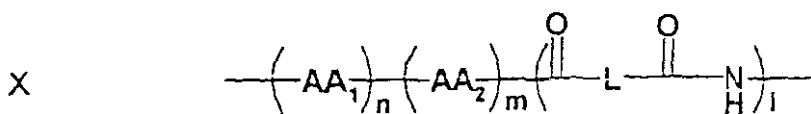
R² eine Bindung zu X, OH, O-(C₁-C₆)-Alkyl, NH-(C₂-C₆)-Alkyl-SO₃H, N(CH₃)-CH₂-CH₂-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-Alkyl-COOH; N(CH₃)-(C₁-C₆)-Alkyl-COOH;

10 mit der Maßgabe, daß R¹ und R² nicht gleichzeitig die folgende Bedeutung haben

R¹ eine Bindung zu X und

R² eine Bindung zu X;

15 R³, R⁴ unabhängig voneinander H, OH;



oder eine Bindung;

20 l, m, n unabhängig voneinander 0 oder 1;

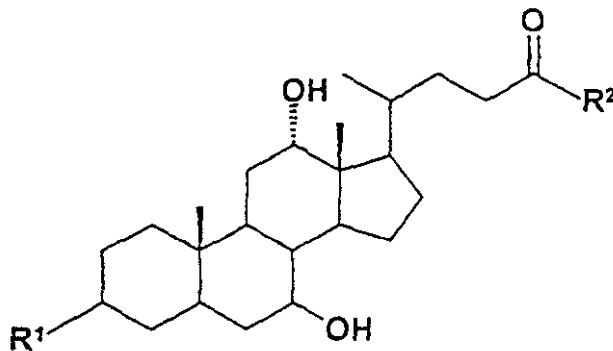
L (C₁ - C₆)-Alkyl, Phenyl;

AA₁, AA₂ unabhängig voneinander einen Aminosäurerest oder einen Aminosäurerest, der einfach oder mehrfach substituiert ist durch eine Aminosäureschutzgruppe;

5 sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze und physiologisch funktionelle Derivate.

Bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, in denen ein oder mehrere Rest(e) die folgende Bedeutung hat bzw. haben:

10 GS eine Gallensäuregruppe der Formel



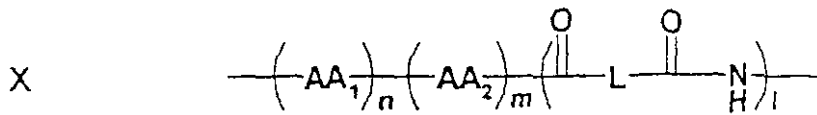
15 R¹ eine Bindung zu X, OH;

R² eine Bindung zu X, OH, O-(C₁-C₆)-Alkyl, NH-(C₂-C₆)-Alkyl-SO₃H, N(CH₃)-CH₂-CH₂-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-Alkyl-COOH; N(CH₃)-(C₁-C₆)-Alkyl-COOH;

20 mit der Maßgabe, daß R¹ und R² nicht gleichzeitig die folgende Bedeutung haben

R¹ eine Bindung zu X und

R² eine Bindung zu X;



oder eine Bindung;

l, m, n unabhängig voneinander 0 oder 1;

5 L (C₁ - C₆)-Alkyl, Phenyl;

AA₁, AA₂ unabhängig voneinander einen Aminosäurerest oder einen Aminosäurerest, der einfach oder mehrfach substituiert ist durch eine Aminosäureschutzgruppe;

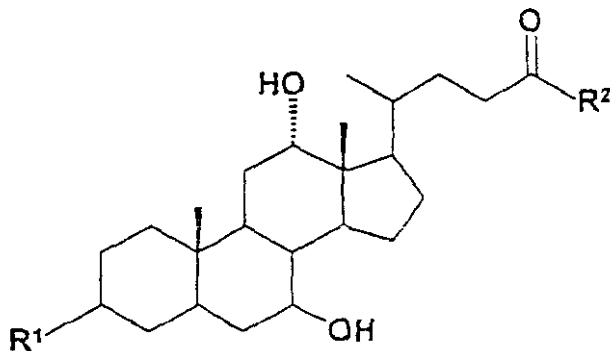
10

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze und physiologisch funktionelle Derivate.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, in denen ein oder mehrere

15 Rest(e) die folgende Bedeutung hat bzw. haben:

GS eine Gallensäuregruppe der Formel



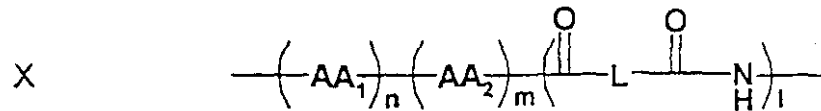
20 R¹ eine Bindung zu X, OH;

R² eine Bindung zu X, OH, O-(C₁-C₆)-Alkyl, NH-(C₂-C₆)-Alkyl-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-Alkyl-COOH;

mit der Maßgabe, daß R¹ und R² nicht gleichzeitig die folgende Bedeutung haben

R¹ eine Bindung zu X und

R² eine Bindung zu X;



oder eine Bindung;

5

l, m, n unabhängig voneinander 0 oder 1;

L (C₁ - C₆)-Alkyl;

- 10 AA₁, AA₂ unabhängig voneinander einen Aminosäurerest oder einen Aminosäurerest, der einfach oder mehrfach substituiert ist durch eine Aminosäureschutzgruppe;

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

15

Unter dem Begriff Alkyl werden geradkettige oder verzweigte Kohlenwasserstoffketten verstanden.

Mit dem Begriff Aminosäuren bzw. Aminosäurereste sind die stereoisomeren

- 20 Formen, d.h. D- oder L-Formen, folgender Verbindungen gemeint:

Alanin	Glycin	Prolin
Cystein	Histidin	Glutamin
Asparaginsäure	Isoleucin	Arginin
25 Glutaminsäure	Lysin	Serin
Phenylalanin	Leucin	Threonin
Tryptophan	Methionin	Valin
Tyrosin	Asparagin	

- 30 2-Aminoadipinsäure 2-Aminoisobuttersäure

	3-Aminoadipinsäure	3-Aminoisobuttersäure
	beta-Alanin	2-Aminopimelinsäure
	2-Aminobuttersäure	2,4-Diaminobuttersäure
	4-Aminobuttersäure	Desmosin
5	Piperidinsäure	2,2-Diaminopimelinsäure
	6-Aminocaprinsäure	2,3-Diaminopropionsäure
	2-Aminoheptansäure	N-Ethylglycin
	2-(2-Thienyl)-glycin	3-(2-Thienyl)-alanin
	Penicillamin	N-Methylglycin
10	N-Ethylasparagin	N-Methylisoleucin
	Hydroxylysin	6-N-Methyllysin
	allo-Hydroxylysin	N-Methylvalin
	3-Hydroxyprolin	Norvalin
	4-Hydroxyprolin	Norleucin
15	Isodesmosin	Ornithin
	allo-Isoleucin	11-Aminoundecansäure

Die Kurzschreibweise der Aminosäuren erfolgte nach der allgemein üblichen Schreibweise (vgl. Schröder, Lübke, *The Peptides*, Band I, New York 1965, Seiten 20 XXII-XXIII; Houben-Weyl, *Methoden der Organischen Chemie*, Band XV/1 und 2, Stuttgart 1974). Die Aminosäure D-Asp steht für die D-Form von Asparaginsäure. Peptide sind ihrer chemischen Natur nach Säureamide und zerfallen bei der Hydrolyse in Aminosäuren.

25 Unter dem Begriff Aminosäureschutzgruppen sind geeignete Gruppen zu verstehen mit denen die funktionellen Gruppen der Seitenketten der Aminosäurereste geschützt sind (siehe z. B. T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd Edition, John Wiley and Sons, New York 1991).
 Bevorzugte Aminosäureschutzgruppen sind: t-butyloxy-carbonyl (BOC), 9-
 30 fluorenylmethoxy-carbonyl (Fmoc), benzyloxy-carbonyl (Z), 2-(3,5-dimethoxyphenyl)prop-2-yloxy-carbonyl (Ddz), methyl, t-butyl, trityl, S-t-butyl, t-

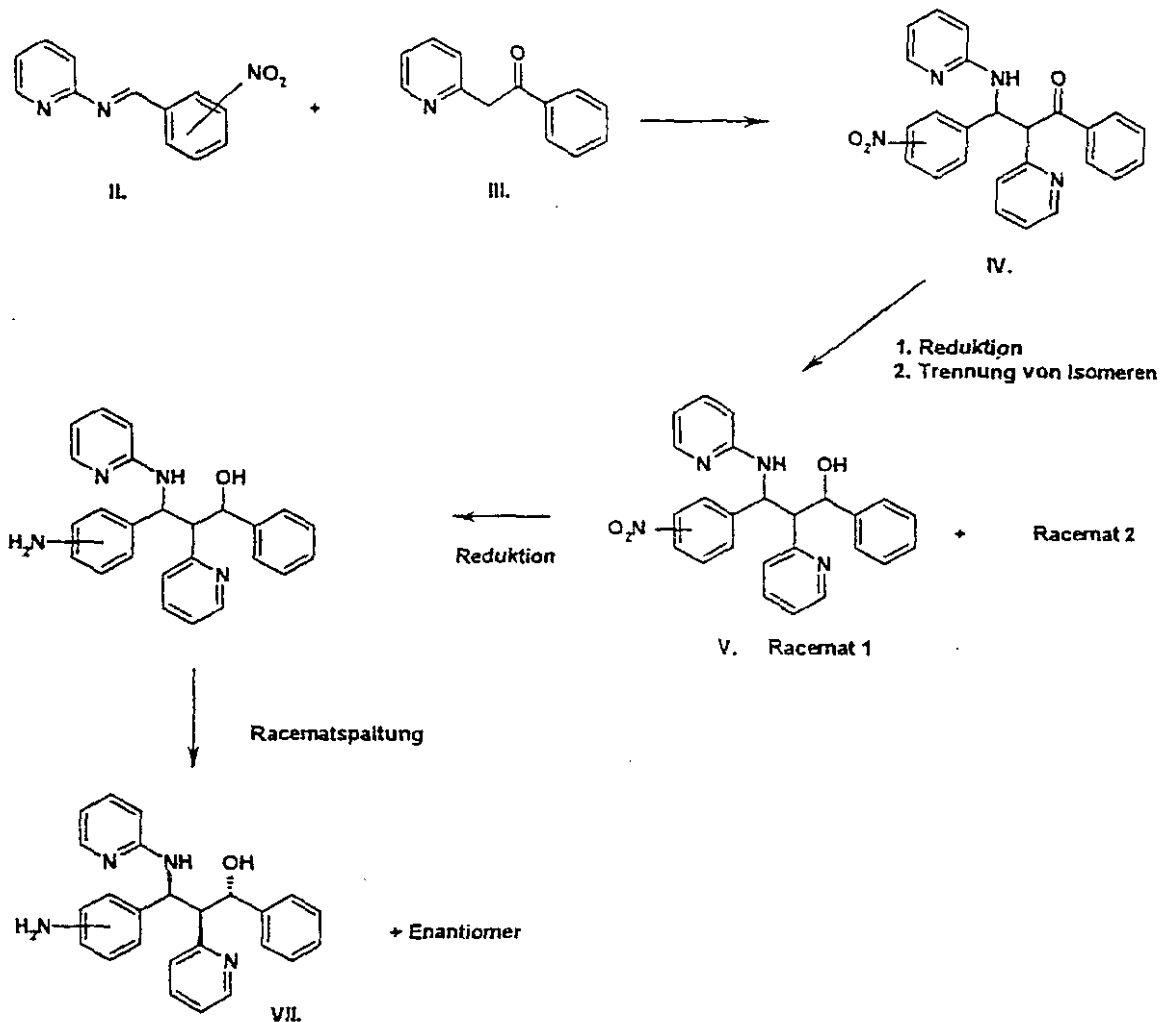
butylamino-carbonyl.

Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I, die durch folgende Reaktionsschemata (Schema 1 bis 4) gekennzeichnet

5 sind:

Verfahren A

Schema 1



- 5 Verbindungen des Typs IV werden erhalten, indem o-, m- oder p-substituierte Imine des Typs II mit dem Keton III zur Reaktion gebracht werden. Die Reaktion kann zum Beispiel durch Mischung der beiden Verbindungen in Substanz, ohne Lösungsmittel, und anschließend Erhitzen oder in einem geeigneten Lösungsmittel wie Ethanol, Tetrahydrofuran (THF), Toluol, Diglyme oder Tetradecan
- 10 bei Temperaturen von 20° C bis 150° C durchgeführt werden.
- Die Ketoverbindungen des Typs IV werden in einem geeigneten Lösungsmittel, wie

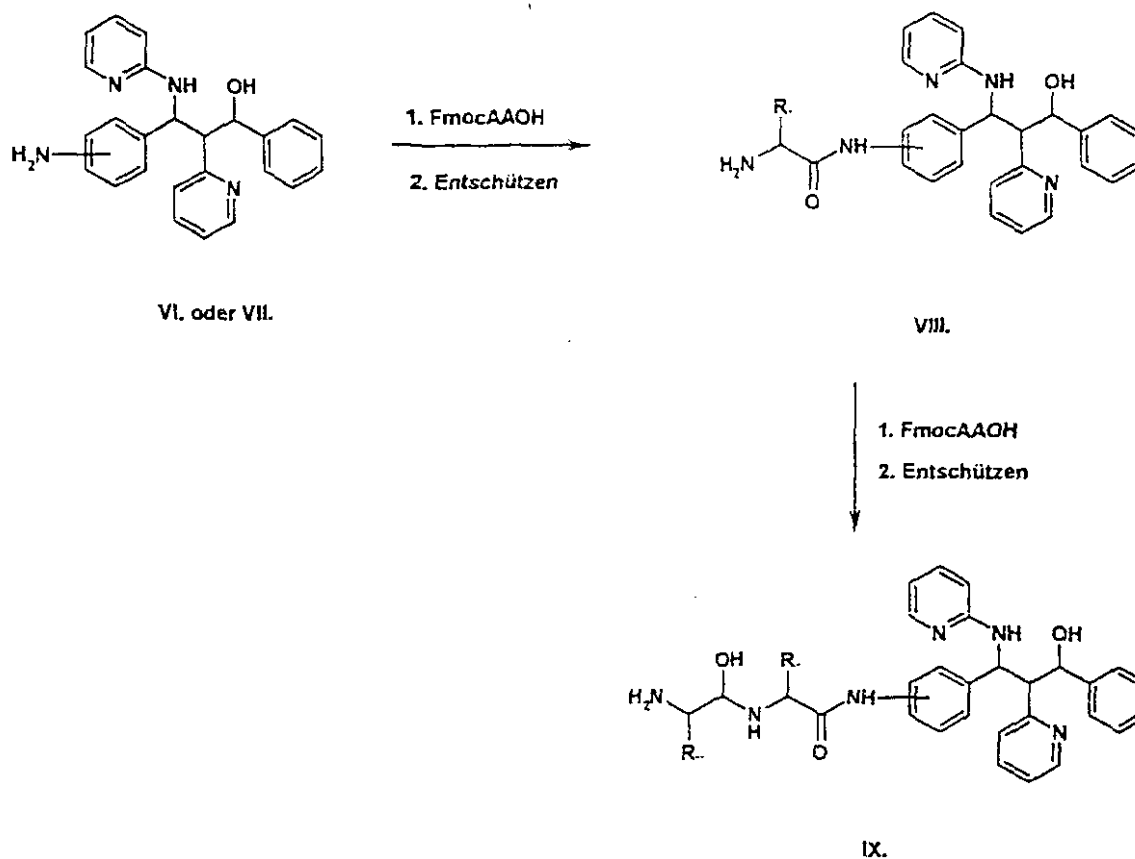
z.B. Methanol, THF oder THF/Wasser mit NaBH₄ oder einem anderen geeigneten Reduktionsmittel bei Temperaturen zwischen -30° C und + 40° C zu

Hydroxyverbindungen des Typs V reduziert. Bei der Reduktion fallen meist zwei Isomerengemische (Racemate) als Hauptprodukte an. Die unterschiedlichen

- 5 Racemate können durch fraktionierte Kristallisation oder durch Kieselgelchromatographie voneinander abgetrennt werden. Die Nitrogruppe in Verbindungen des Typs V kann durch bekannte Verfahren, wie z.B. die katalytische Hydrierung mit Pd oder Pd auf Kohle und H₂ in Methanol, reduziert werden.

- 10 Die so erhaltenen racemischen Verbindungen des Typs VI kann weiter in ihre Enantiomere aufgetrennt werden. Die Racematspaltung von VI in Enantiomere des Typs VII kann durch Chromatographie über chirales Säulenmaterial oder durch literaturbekannte Verfahren mit optisch aktiven Hilfsreagenzien durchgeführt werden (vgl. J. Org. Chem. 44, 1979, 4891).

Schema 2

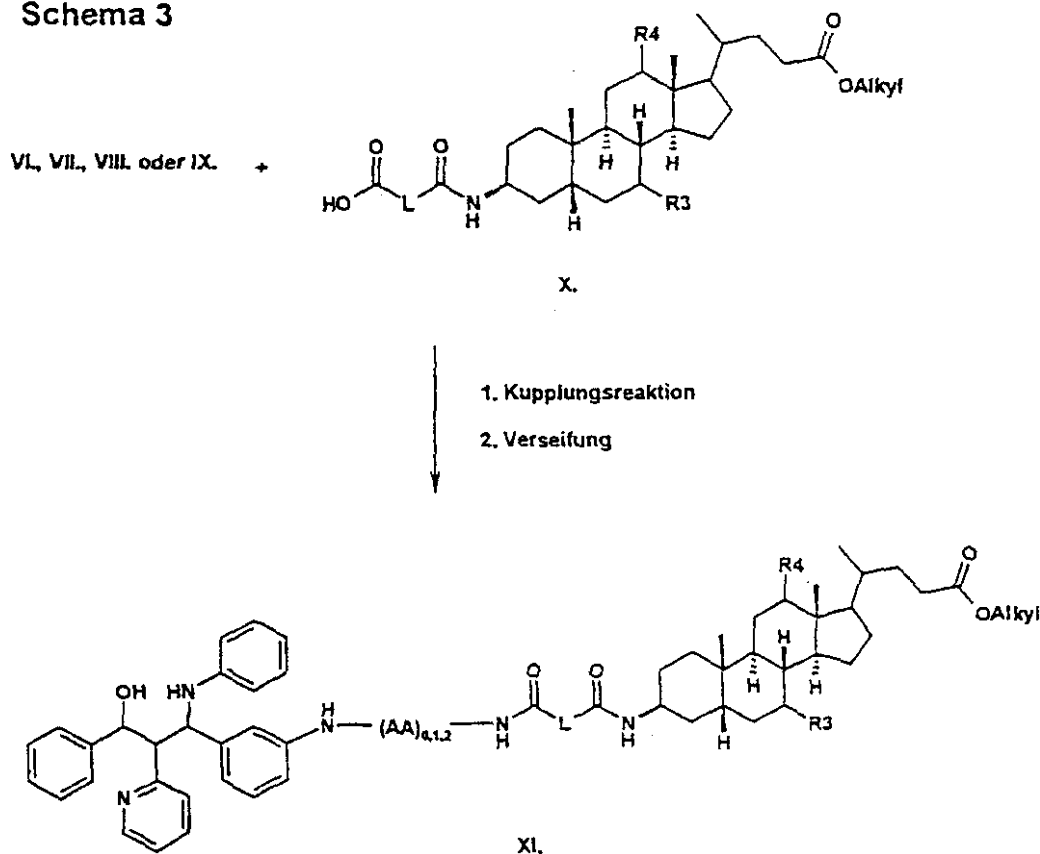


Entsprechend Schema 2 können die aromatischen Amine des Typs VI oder VII (Racemat oder reines Enantiomer) mit einer Aminosäure unter bekannten Standard-Peptikupplungsverfahren zu Derivaten VIII umgesetzt werden. Als Verfahren eignet sich zum Beispiel die Kupplung mit TOTU und Triethylamin in DMF. (Literatur siehe: 5 G. Breipohl, W. König EP 0460446; W. König, G. Breipohl, P. Pokorny, M. Birkner in E. Giralt and D. Andreu (Eds.) Peptides 1990, Escom, Leiden, 1991, 143-145). Die Reste AA₁ und AA₂ haben die unter Formel I genannte Bedeutung. Die Aminofunktion der Aminosäure ist mit einer Schutzgruppe versehen, z.B. Fmoc, die 10 Carbonsäure ist ungeschützt.

Bei Aminosäuren mit funktionellen Gruppen in der Seitenkette sind diese entsprechend geschützt, entweder temporär während der Synthese oder zum Verbleib in den erfindungsgemäßen Verbindungen.

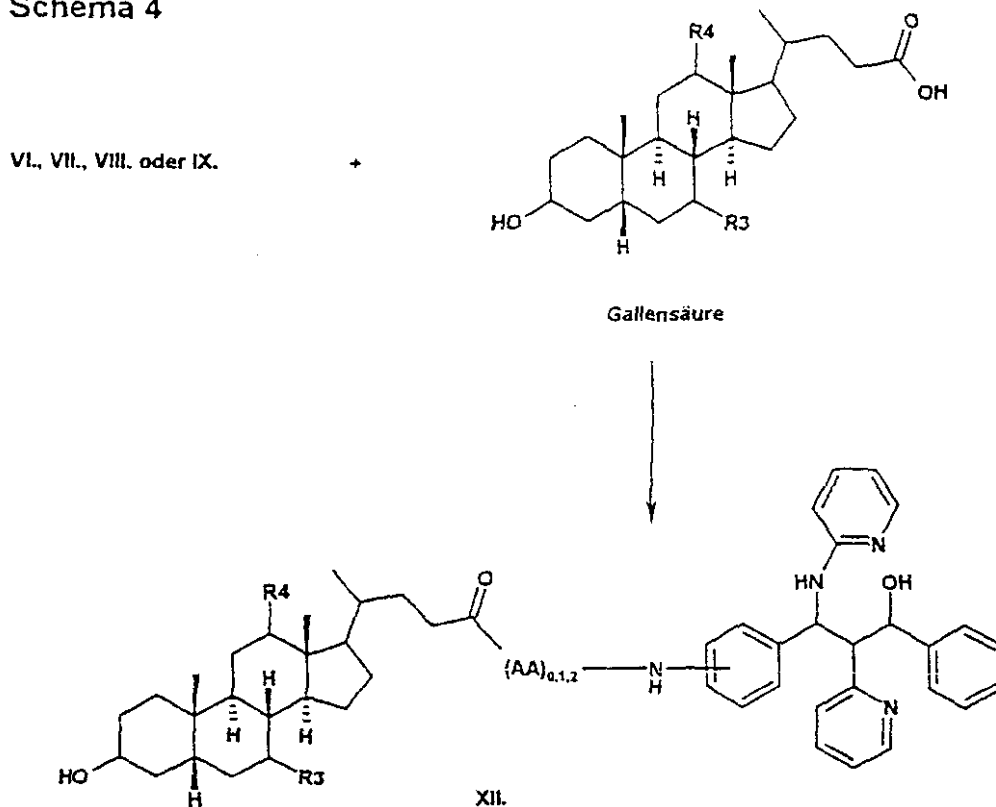
Um zum Derivat VIII zu gelangen wird die Schutzgruppe der Aminofunktion abgespalten, z.B. im Fall von Fmoc in einem Gemisch aus DMF und Piperidin. Dipeptidkonjugate IX werden erhalten, wenn, ausgehend von Verbindungen des Typs VIII, die Reaktionssequenz (a) Kupplung einer Aminosäure (b) Entschützen wiederholt wird.

Schema 3



Gallensäurederivate des Typs X können aus 3-Aminogallensäureestern durch Verknüpfung mit Alkyl- oder Aryldicarbonsäuren oder deren Derivaten, wie z.B. Bernsteinsäureanhydrid nach bekannten Verfahren hergestellt werden (z.B. EP 0614908, EP 0489423). Diese Verbindungen (X) werden mit Aminoverbindungen des Typ VI, VII, VIII oder IX nach Standard-Peptidkupplungsverfahren zur Reaktion gebracht. Nach der Kupplungsreaktion werden durch Verseifung der Alkylesterfunktion des Gallensäureteils die Verbindungen des Typs XI erhalten.

Schema 4



Die Aminoverbindungen des Typs VI, VII, VIII oder XI können mit der Carbonsäurefunktion von Gallensäuren zur Reaktion gebracht. Hier finden ebenfalls bekannte Peptidkupplungsverfahren Verwendung, z.B. Kupplungen in Gegenwart von TOTU und Triethylamin oder mit Dicyclohexylcarbodiimid, Hydroxybenzotriazol und Triethylamin in THF. Nach diesen Verfahren können die Verbindungen des Typs XII erhalten werden.

Pharmazeutisch verträgliche Salze sind aufgrund ihrer höheren Wasserlöslichkeit gegenüber den Ausgangs- bzw. Basisverbindungen besonders geeignet für medizinische Anwendungen. Diese Salze müssen ein pharmazeutisch verträgliches Anion oder Kation aufweisen. Geeignete pharmazeutisch verträgliche Säureadditionssalze der erfindungsgemäßen Verbindungen sind Salze anorganischer Säuren, wie Salzsäure, Bromwasserstoff-, Phosphor-, Metaphosphor-, Salpeter-, Sulfon- und Schwefelsäure sowie organischer Säuren, wie z.B. Essigsäure, Benzolsulfon-, Benzoe-, Zitronen-, Ethansulfon-, Fumar-,

Glucon-, Glykol-, Isothion-, Milch-, Lactobion-, Malein-, Apfel-, Methansulfon-, Bernstein-, p-Toluolsulfon-, Wein- und Trifluoressigsäure. Für medizinische Zwecke wird in besonders bevorzugter Weise das Chlorsalz verwendet. Geeignete pharmazeutisch verträgliche basische Salze sind Ammoniumsalze, Alkalimetallsalze
5 (wie Natrium- und Kaliumsalze) und Erdalkalisalze (wie Magnesium- und Calciumsalze).

Salze mit einem nicht pharmazeutisch verträglichen Anion gehören ebenfalls in den Rahmen der Erfindung als nützliche Zwischenprodukte für die Herstellung oder
-10 Reinigung pharmazeutisch verträglicher Salze und/oder für die Verwendung in nicht-therapeutischen, zum Beispiel in-vitro-Anwendungen.

Der hier verwendete Begriff "physiologisch funktionelles Derivat" bezeichnet jedes physiologisch verträgliche Derivat einer erfindungsgemäßen Verbindung der Formel
15 I, z.B. einen Ester, der bei Verabreichung an einen Säuger, wie z.B. den Menschen, in der Lage ist, (direkt oder indirekt) eine Verbindung der Formel I oder einen aktiven Metaboliten hiervon zu bilden.

Zu den physiologisch funktionellen Derivaten zählen auch Prodrugs der
20 erfindungsgemäßen Verbindungen. Solche Prodrugs können in vivo zu einer erfindungsgemäßen Verbindung metabolisiert werden. Diese Prodrugs können selbst wirksam sein oder nicht.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch in verschiedenen polymorphen
25 Formen vorliegen, z.B. als amorphe und kristalline polymorphe Formen. Alle polymorphen Formen der erfindungsgemäßen Verbindungen gehören in den Rahmen der Erfindung und sind ein weiterer Aspekt der Erfindung.

Nachfolgend beziehen sich alle Verweise auf "Verbindung(en) gemäß Formel (I)"
30 auf Verbindung(en) der Formel (I) wie vorstehend beschrieben, sowie ihre Salze, Solvate und physiologisch funktionellen Derivate wie hierin beschrieben.

Die Menge einer Verbindung gemäß Formel (I), die erforderlich ist, um den gewünschten biologischen Effekt zu erreichen, ist abhängig von einer Reihe von Faktoren, z.B. der gewählten spezifischen Verbindung, der beabsichtigten Verwendung, der Art der Verabreichung und dem klinischen Zustand des Patienten.

- 5 Im allgemeinen liegt die Tagesdosis im Bereich von 0,3 mg bis 100 mg (typischerweise von 3 mg bis 50 mg) pro Tag pro Kilogramm Körpergewicht, z.B. 3-10 mg/kg/Tag. Eine intravenöse Dosis kann z.B. im Bereich von 0,3 mg bis 1,0 mg/kg liegen, die geeigneterweise als Infusion von 10 ng bis 100 ng pro Kilogramm pro Minute verabreicht werden kann. Geeignete Infusionslösungen für diese Zwecke
- 10 können z.B. von 0,1 ng bis 10 mg, typischerweise von 1 ng bis 10 mg pro Milliliter, enthalten. Einzeldosen können z.B. von 1 mg bis 10 g des Wirkstoffs enthalten. Somit können Ampullen für Injektionen beispielsweise von 1 mg bis 100 mg, und oral verabreichbare Einzeldosisformulierungen, wie zum Beispiel Tabletten oder Kapseln, können beispielsweise von 1,0 bis 1000 mg, typischerweise von 10 bis
- 15 600 mg enthalten. Im Falle pharmazeutisch verträglicher Salze beziehen sich die vorgenannten Gewichtsangaben auf das Gewicht des vom Salz abgeleiteten Benzothiazepin-Ions. Zur Prophylaxe oder Therapie der oben genannten Zustände können die Verbindungen gemäß Formel (I) selbst als Verbindung verwendet werden, vorzugsweise liegen sie jedoch mit einem verträglichen Träger in Form
- 20 einer pharmazeutischen Zusammensetzung vor. Der Träger muß natürlich verträglich sein, in dem Sinne, daß er mit den anderen Bestandteilen der Zusammensetzung kompatibel ist und nicht gesundheitsschädlich für den Patienten ist. Der Träger kann ein Feststoff oder eine Flüssigkeit oder beides sein und wird vorzugsweise mit der Verbindung als Einzeldosis formuliert, beispielsweise als
- 25 Tablette, die von 0,05% bis 95 Gew.-% des Wirkstoffs enthalten kann. Weitere pharmazeutisch aktive Substanzen können ebenfalls vorhanden sein, einschließlich weiterer Verbindungen gemäß Formel (I). Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen können nach einer der bekannten pharmazeutischen Methoden hergestellt werden, die im wesentlichen darin
- 30 bestehen, daß die Bestandteile mit pharmakologisch verträglichen Träger- und/oder Hilfsstoffen gemischt werden.

Erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzungen sind solche, die für orale, rektale, topische, perorale (z.B. sublinguale) und parenterale (z.B. subkutane, intramuskuläre, intradermale oder intravenöse) Verabreichung geeignet sind, wenngleich die geeignetste Verabreichungsweise in jedem Einzelfall von der Art und Schwere des zu behandelnden Zustandes und von der Art der jeweils
5 verwendeten Verbindung gemäß Formel (I) abhängig ist. Auch dragierte Formulierungen und dragierte Retardformulierungen gehören in den Rahmen der Erfindung. Bevorzugt sind säure- und magensaftresistente Formulierungen. Geeignete magensaftresistente Beschichtungen umfassen Celluloseacetatphthalat, Polyvinylacetatphthalat, Hydroxypropylmethylcellulosephthalat und anionische Polymere von Methacrylsäure und Methacrylsäuremethylester.

Geeignete pharmazeutische Verbindungen für die orale Verabreichung können in separaten Einheiten vorliegen, wie zum Beispiel Kapseln, Oblatenkapseln,
15 Lutschtabletten oder Tabletten, die jeweils eine bestimmte Menge der Verbindung gemäß Formel (I) enthalten; als Pulver oder Granulate; als Lösung oder Suspension in einer wäßrigen oder nicht-wäßrigen Flüssigkeit; oder als eine Öl-in-Wasser- oder Wasser-in-Öl-Emulsion. Diese Zusammensetzungen können, wie bereits erwähnt, nach jeder geeigneten pharmazeutischen Methode zubereitet werden, die einen
20 Schritt umfaßt, bei dem der Wirkstoff und der Träger (der aus einem oder mehreren zusätzlichen Bestandteilen bestehen kann) in Kontakt gebracht werden. Im allgemeinen werden die Zusammensetzungen durch gleichmäßiges und homogenes Vermischen des Wirkstoffs mit einem flüssigen und/oder feinverteilten festen Träger hergestellt, wonach das Produkt, falls erforderlich, geformt wird. So kann
25 beispielsweise eine Tablette hergestellt werden, indem ein Pulver oder Granulat der Verbindung verpreßt oder geformt wird, gegebenenfalls mit einem oder mehreren zusätzlichen Bestandteilen. Gepreßte Tabletten können durch Tablettieren der Verbindung in frei fließender Form, wie beispielsweise einem Pulver oder Granulat, gegebenenfalls gemischt mit einem Bindemittel, Gleitmittel, inertem Verdünner
30 und/oder einem (mehreren) oberflächenaktiven/dispergierenden Mittel in einer geeigneten Maschine hergestellt werden. Geformte Tabletten können durch Formen

der pulverförmigen, mit einem inerten flüssigen Verdünnungsmittel befeuchteten Verbindung in einer geeigneten Maschine hergestellt werden.

Pharmazeutische Zusammensetzungen, die für eine perorale (sublinguale) Verabreichung geeignet sind, umfassen Lutschtabletten, die eine Verbindung gemäß Formel (I) mit einem Geschmacksstoff enthalten, üblicherweise Saccharose und Gummi arabicum oder Tragant, und Pastillen, die die Verbindung in einer inerten Basis wie Gelatine und Glycerin oder Saccharose und Gummi arabicum umfassen.

10

Geeignete pharmazeutische Zusammensetzungen für die parenterale Verabreichung umfassen vorzugsweise sterile wäßrige Zubereitungen einer Verbindung gemäß Formel (I), die vorzugsweise isotonisch mit dem Blut des vorgesehenen Empfängers sind. Diese Zubereitungen werden vorzugsweise

15

intravenös verabreicht, wengleich die Verabreichung auch subkutan, intramuskulär oder intradermal als Injektion erfolgen kann. Diese Zubereitungen können vorzugsweise hergestellt werden, indem die Verbindung mit Wasser gemischt wird und die erhaltene Lösung steril und mit dem Blut isotonisch gemacht wird.

Injizierbare erfindungsgemäße Zusammensetzungen enthalten im allgemeinen von 0,1 bis 5 Gew.-% der aktiven Verbindung.

20

Geeignete pharmazeutische Zusammensetzungen für die rektale Verabreichung liegen vorzugsweise als Einzeldosis-Zäpfchen vor. Diese können hergestellt werden, indem man eine Verbindung gemäß Formel (I) mit einem oder mehreren herkömmlichen festen Trägern, beispielsweise Kakaobutter, mischt und das entstehende Gemisch in Form bringt.

25

Geeignete pharmazeutische Zusammensetzungen für die topische Anwendung auf der Haut liegen vorzugsweise als Salbe, Creme, Lotion, Paste, Spray, Aerosol oder Öl vor. Als Träger können Vaseline, Lanolin, Polyethylenglycole, Alkohole und Kombinationen von zwei oder mehreren dieser Substanzen verwendet werden. Der

30

Wirkstoff ist im allgemeinen in einer Konzentration von 0,1 bis 15 Gew.-% der Zusammensetzung vorhanden, beispielsweise von 0,5 bis 2%.

- Auch eine transdermale Verabreichung ist möglich. Geeignete pharmazeutische
- 5 Zusammensetzungen für transdermale Anwendungen können als einzelne Pflaster vorliegen, die für einen langzeitigen engen Kontakt mit der Epidermis des Patienten geeignet sind. Solche Pflaster enthalten geeigneterweise den Wirkstoff in einer gegebenenfalls gepufferten wäßrigen Lösung, gelöst und/oder dispergiert in einem Haftmittel oder dispergiert in einem Polymer. Eine geeignete Wirkstoff-
- 10 Konzentration beträgt ca. 1% bis 35%, vorzugsweise ca. 3% bis 15%. Als eine besondere Möglichkeit kann der Wirkstoff, wie beispielsweise in *Pharmaceutical Research*, 2(6): 318 (1986) beschrieben, durch Elektrotransport oder Iontophorese freigesetzt werden.
- 15 Die Erfindung bezieht sich auf Verbindungen der Formel I, in Form ihrer Racemate, racemischen Mischungen und reinen Enantiomere sowie auf ihre Diastereomere und Mischungen davon.

Die Verbindungen der Formel I und deren pharmazeutisch verträgliche Salze und

20 physiologisch funktionelle Derivate zeichnen sich durch günstige Wirkungen auf den Lipidstoffwechsel aus. Die Verbindungen können allein oder in Kombination mit weiteren lipidsenkenden Wirkstoffen eingesetzt werden. Die Verbindungen eignen sich zur Prophylaxe sowie insbesondere zur Behandlung von Lipidstoffwechselstörungen, insbesondere von Hyperlipidämie dar. Die

25 Verbindungen der Formel I eignen sich ebenfalls zur Beeinflussung des Serumcholesterinspiegels sowie zur Prävention und Behandlung arteriosklerotischer Erscheinungen.

Folgende Befunde belegen die pharmakologische Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindungen.

30

Die biologische Prüfung der erfindungsgemäßen Verbindungen erfolgte durch

Ermittlung der Hemmung der [^3H]-Taurocholataufnahme in Bürstensaummembranvesikel des Ileums von Kaninchen. Der Hemmtest wurde wie folgt durchgeführt:

- 5 1. Präparation von Bürstensaummembranvesikeln aus dem Ileum von Kaninchen

Die Präparation von Bürstensaummembranvesikeln aus den Darmzellen des Dünndarm erfolgte mit der sogenannten Mg^{2+} -Präzipitationsmethode.

- 10 Männliche Neuseeland-Kaninchen (2 bis 2,5 kg Körpergewicht) wurden durch intravenöse Injektion von 0,5 ml T61[®], einer wäßrigen Lösung von 2,5 mg Tetracain HCl, 100 mg Embutramid und 25 mg Mebezoniumjodid getötet. Der Dünndarm wurde entnommen und mit eiskalter physiologischer Kochsalzlösung gespült. Die terminalen 7/10 des Dünndarms (gemessen in oral-rektaler Richtung,
- 15 d.h. das terminale Ileum, welches das aktive Na^+ -abhängige Gallensäuretransportsystem enthält) wurden zur Präparation der Bürstensaummembranvesikel verwendet. Die Därme wurden in Kunststoffbeuteln unter Stickstoff bei -80°C eingefroren. Zur Präparation der Membranvesikel wurden die eingefrorenen Därme bei 30°C im Wasserbad aufgetaut. Die Mucosa wurde
- 20 abgeschabt und in 60 ml eiskaltem 12 mM Tris/HCl-Puffer (pH 7,1)/300 mM Mannit, 5 mM EGTA/10 mg/l Phenylmethyl-sulfonylfluorid/1 mg/l Trypsin Inhibitor v. Sojabohnen (32 U/mg)/0,5 mg/l Trypsin Inhibitor v. Rinderlunge (193 U/mg)/5 mg/l Bacitracin suspendiert. Nach dem Verdünnen auf 300 ml mit eiskaltem destilliertem Wasser wurde mit einem Ultraturrax (18-Stab, IKA Werk Staufen, Deutschland) 3
- 25 Minuten bei 75 % max. Leistung unter Eiskühlung homogenisiert. Nach Zugabe von 3 ml 1 M MgCl_2 -Lösung (Endkonzentration 10 mM) ließ man exakt 1 Minute bei 0°C stehen. Durch Zugabe von Mg^{2+} aggregieren die Zellmembranen und präzipitieren mit Ausnahme der Bürstensaummembranen. Nach einer 15-minütigen Zentrifugation bei $3000 \times g$ (5000 rpm, SS-34-Rotor) wurde der Niederschlag verworfen und der
- 30 Überstand, der die Bürstensaummembranen enthielt, 30 Minuten bei $48000 \times g$ (20000 rpm, SS-34-Rotor) zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, der

Niederschlag in 60 ml 12 mM Tris/HCl-Puffer (pH 7,1)/60 mM Mannit, 5 mM EGTA mit einem Potter Elvehjem Homogenisator (Braun, Melsungen, 900 rpm, 10 Hübe) rehomogenisiert. Nach Zugabe von 0,1 ml 1 M $MgCl_2$ -Lösung und 15-minütiger Inkubationszeit bei 0°C wurde erneut 15 Minuten bei 3000 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend nochmals 30 Minuten bei 48000 x g (20000 rpm, SS-34-Rotor) zentrifugiert. Der Niederschlag wurde in 30 ml 10 mM Tris/Hepes-Puffer (pH 7,4)/300 mM Mannit aufgenommen und durch 20 Hübe in einem Potter Elvehjem Homogenisator bei 1000 rpm homogen resuspendiert. Nach 30 minütiger Zentrifugation bei 48000 x g (20000 rpm, SS-34-Rotor) wurde der Niederschlag in 0,5 bis 2 ml Tris/Hepes-Puffer (pH 7,4)/280 mM Mannit (Endkonzentration 20 mg/ml) aufgenommen und mit Hilfe einer Tuberkulinspritze mit einer 27 Gauge-Nadel resuspendiert. Die Vesikel wurden entweder unmittelbar nach der Präparation für Transportuntersuchungen verwendet oder bei -196°C in 4 mg Portionen in flüssigem Stickstoff aufbewahrt.

15

2. Hemmung der Na^+ -abhängigen [3H]Taurocholat-Aufnahme in Bürstensaummembranvesikel des Ileums

Die Aufnahme von Substraten in die vorstehend beschriebenen Bürstensaummembranvesikel wurde mittels der sogenannten Membranfiltrationstechnik bestimmt. 10 μ l der Vesikelsuspension (100 μ g Protein) wurden als Tropfen an die Wand eines Polystyrolinkubationsröhrchens (11 x 70 mm) pipettiert, welches das Inkubationsmedium mit den entsprechenden Liganden enthielt (90 μ l). Das Inkubationsmedium enthielt 0,75 μ l = 0,75 μ Ci [$^3H(G)$]-Taurocholat (spezifische Aktivität: 2,1 Ci/mMol)/0,5 μ l 10 mM Taurocholat/8,75 μ l Natrium-Transport-Puffer (10 mM Tris/Hepes (pH 7,4)/100 mM Mannit/100 mM NaCl) (Na-T-P) bzw. 8,75 μ l Kalium-Transport-Puffer (10 mM Tris/Hepes (pH 7,4)/100 mM Mannit/100 mM KCl) (K-T-P) und 80 μ l der betreffenden Inhibitorlösung, je nach Experiment in Na-T-Puffer bzw. K-T-Puffer gelöst. Das Inkubationsmedium wurde durch ein Polyvinylidenfluorid-Membranfilter (SYHV LO 4NS, 0,45 μ m, 4 mm \varnothing , Millipore, Eschborn, Deutschland) filtriert. Durch

30

Vermischung der Vesikel mit dem Inkubationsmedium wurde die Transportmessung gestartet. Die Konzentration an Taurocholat im Inkubationsansatz betrug 50 μM . Nach der gewünschten Inkubationszeit (üblicherweise 1 Minute) wurde der Transport durch Zugabe von 1 ml eiskalter Stopplösung (10 mM Tris/Hepes (pH 7,4)/150 mM KCl) gestoppt. Die entstehende Mischung wurde sofort bei einem Vakuum von 25 bis 35 mbar über ein Membranfilter aus Cellulosenitrat (ME 25, 0,45 μm , 25 mm Durchmesser, Schleicher & Schuell, Dassell, Deutschland) abgesaugt. Der Filter wurde mit 5 ml eiskalter Stopplösung nachgewaschen.

- 10 Zur Messung der Aufnahme des radioaktiv markierten Taurocholats wurde das Membranfilter mit 4 ml des Szintillators Quickszint 361 (Zinsser Analytik GmbH, Frankfurt, Deutschland) aufgelöst und die Radioaktivität durch Flüssigkeits-Szintillationsmessung in einem Meßgerät TriCarb 2500 (Canberra Packard GmbH, Frankfurt, Deutschland) gemessen. Die gemessenen Werte wurden nach Eichung
15 des Gerätes mit Hilfe von Standardproben und nach Korrektur evtl. vorhandener Chemilumineszenz als dpm (Decompositions per Minute) erhalten. Die Kontrollwerte wurden jeweils in Na-T-P und K-T-P ermittelt. Die Differenz zwischen der Aufnahme in Na-T-P und K-T-P ergab den Na^+ -abhängigen Transportanteil. Als $\text{IC}_{50} \text{Na}^+$ wurde diejenige Konzentration an Inhibitor bezeichnet,
20 bei der der Na^+ -abhängige Transportanteil um 50 % - bezogen auf die Kontrolle - gehemmt war.

Die pharmakologischen Daten umfassen eine Testserie, in der die Interaktion der erfindungsgemäßen Verbindungen mit dem intestinalen Gallensäuretransportsystem
25 im terminalen Dünndarm untersucht wurde. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1 zeigt Meßwerte der Hemmung der [^3H]-Taurocholataufnahme in Bürsensaummembranvesikel des Ileums von Kaninchen. Angegeben sind die
30 Quotienten aus den $\text{IC}_{50\text{Na}}$ -Werten der Referenzsubstanz als Taurochenodesoxycholat (TCDC) und der jeweiligen Testsubstanz.

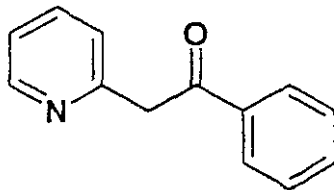
Tabelle 1:

Verbindungen aus Beispiel	IC_{50Na} -TCDC [μ mol]
	IC_{50Na} -Substanz [μ mol]
1 j	1,51
1 k	1,59
2 d	0,56
2 e	1,96
4	0,50
7	0,15
8	0,91
9	2,02
10	1,63
11	1,96
12	2,58
13	0,56
14	1,52

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur näheren Erläuterung der Erfindung, ohne dieselbe auf in den Beispielen beschriebene Produkte und Ausführungsformen einzuschränken.

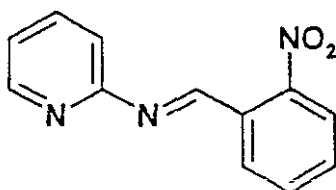
5 Beispiel 1

a.



Zu 50 g (0.54 mol) Picolin in 770 ml Tetrahydrofuran wurden bei -55°C 366 ml 15 %
 n-Butyllithium in n-Hexan zugetropft. Es wurde auf Zimmertemperatur erwärmt und
 10 erneut auf -55°C gekühlt. 77 g N,N-Dimethylbenzamid (0.52 mol) in 570 ml
 Tetrahydrofuran wurden langsam zugetropft, anschließend auf Zimmertemperatur
 erwärmt und noch 1 h gerührt. Nach der Zugabe von 550 ml 1N Salzsäure wurde mit
 Ethylacetat extrahiert (3x), die organischen Phasen mit MgSO_4 getrocknet und
 eingedampft. Durch Destillation des Rückstandes wurden 47.5 g (47%) Produkt
 15 erhalten. Siedepunkt $134\text{-}136^{\circ}\text{C}/0.28$ mbar.

b.



20.0 g (0.13 mol) o-Nitrobenzaldehyd, 12.5 g (0.13 mol) 2-Aminopyridin und 0.3 g
 20 p-Toluolsulfonsäure wurden in 150 ml Toluol 2.5 h am Wasserabscheider unter
 Rückfluß erhitzt. Die Lösung wurde abgekühlt, der entstandene Niederschlag
 abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute: 18.1 g (60%) Produkt

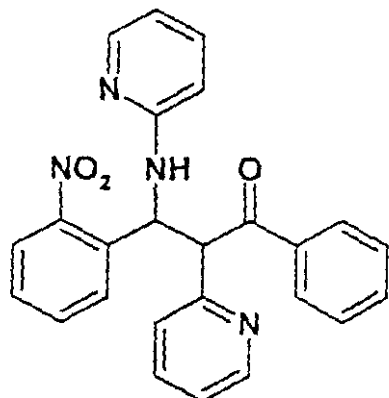
Schmelzpunkt: $93\text{-}95^{\circ}\text{C}$

25 $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ (227)

MS (FAB) 228

 $\text{M} + \text{H}^+$

c.



12.0 g (61 mmol) Keton aus Beispiel 1 a und 15.0 g (66 mmol) Imin aus Beispiel 1 b wurden 45 min auf dem Dampfbad erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde in
5 Ethanol unter Erwärmen gelöst. Nach dem Abkühlen wurde der Niederschlag abgesaugt und aus Ethanol umkristallisiert.

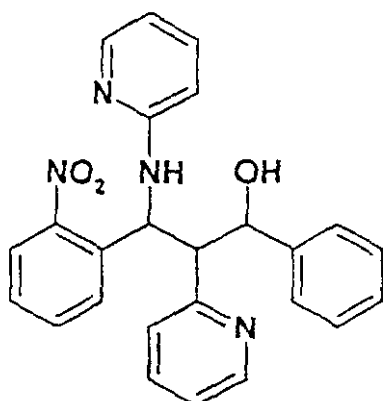
Ausbeute: 11.8 g (46%) Produkt

$C_{25}H_{20}N_4O_3$ (424.2)

MS (FAB) 425

$M + H^+$

d.



8.0 g (18.8 mmol) Ketoverbindung aus Beispiel 1 c wurden in 300 ml
 Tetrahydrofuran/Wasser 10:1 gelöst, mit 4.67 g Natriumborhydrid versetzt und 2 h
 5 bei Zimmertemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung eingedampft, der
 Rückstand mit 100 ml 2N Salzsäure versetzt und auf dem Dampfbad erwärmt bis
 alles gelöst war. Nach dem Abkühlen wurde mit 4N NaOH-Lösung basisch gestellt
 und mit Ethylacetat (2x) extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit $MgSO_4$
 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde über Kieselgel
 10 chromatographiert (Heptan/Ethylacetat 1:1). Es wurden zwei racemische
 Verbindungen als Produkt erhalten.

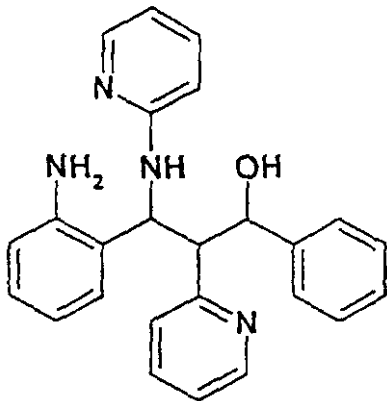
1. Fraktion: 3.9 g (48 %) unpolares Racemat (Bsp. 1 d/1)

$C_{25}H_{22}N_4O_3$ (426.2) MS (FAB) 427 $M + H^+$

2. Fraktion: 2.5 g (31 %) polares Racemat (Bsp. 1 d/2)

15 $C_{25}H_{22}N_4O_3$ (426.2) MS (FAB) 427 $M + H^+$

e.



2.5 g (5.86 mmol) des unpolaren Racemats aus Beispiel 1 d/1 wurden in 300 ml Methanol gelöst, mit ca. 20 mg Pd/C 10 % versetzt und unter H₂-Atmosphäre bei Zimmertemperatur hydriert. Vom Katalysator wurde abfiltriert und die Lösung eingedampft. Der Rückstand wurde über Kieselgel chromatographiert (n-Heptan/ Ethylacetat 7:13).

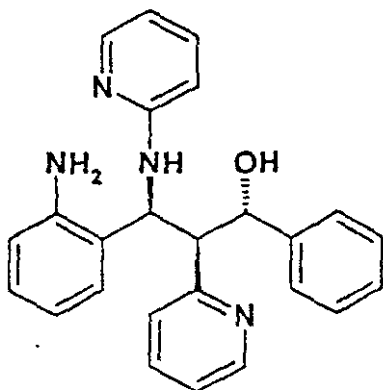
Ausbeute: 1.9 g (82%) Produkt

C₂₅H₂₄N₄O (396.22) MS (FAB) 397

M + H⁺

10

f.



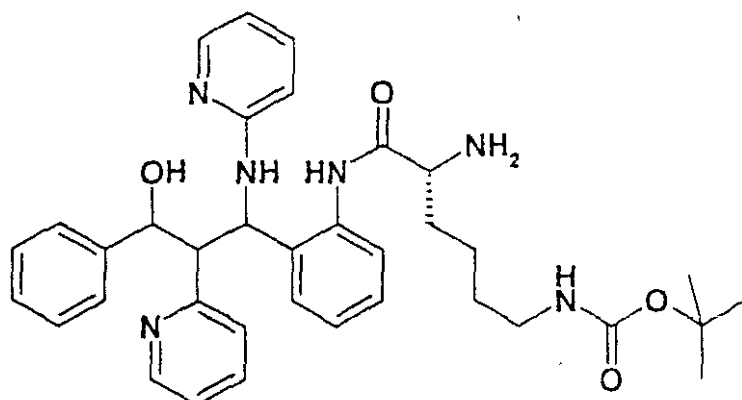
(+)-Enantiomer

(Beispiel 1 f/2)

100 mg der racematischen Verbindung aus Beispiel 1 e wurde durch präparative HPLC in die Enantiomere getrennt. Die Trennung erfolgte über eine CSP-Chiralpak-Säule (Fa. Daicel, Düsseldorf) mit n-Hexan/Ethanol 4:1.

Als erste Fraktion wurden 40 mg des (-)-Enantiomers (Bsp. 1 f/1) als 2. Fraktion 40 mg des (+)-Enantiomers (Bsp. 1 f/2) erhalten.

g.



4.0 g (10.1 mmol) der Aminoverbindung aus Beispiel 1e (unpolares Racemat), 4.85 g (10.3 mmol) N-Fmoc-D-Lys(BOC)OH, 4.0 g (12.2 mmol) TOTU und 2.7 ml

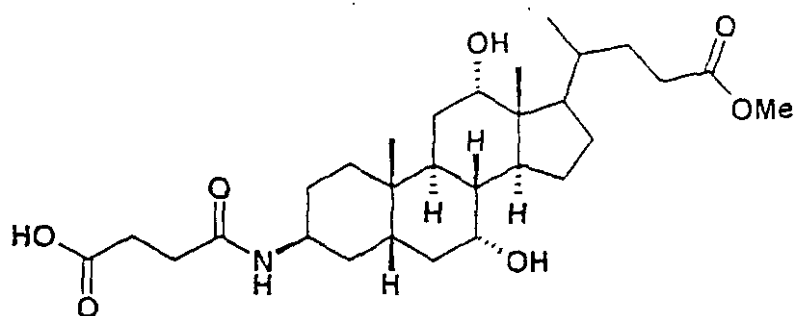
- 5 Triethylamin wurden in 300 ml Dimethylformamid gelöst und 2 h bei Zimmertemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Wasser gegossen und mit Ethylacetat (2 x) extrahiert. Die organischen Phasen wurden getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. Der Rückstand wurde in 150 ml Dimethylformamid/Piperidin 2:1 zur Abspaltung der Fmoc-Gruppe gelöst und 1 h bei Zimmertemperatur gerührt. Es
- 10 wurde auf Wasser gegossen, mit Ethylacetat (3 x) extrahiert. Die organischen Phasen wurden getrocknet ($MgSO_4$) und eingedampft. Chromatographie über Kieselgel (Dichlormethan/Methanol 9:1) ergab 4.0 g (63.5 %) Produkt.

$C_{36}H_{44}N_6O_4$ (624.3)

MS (FAB) 625

$M + H^+$

h.

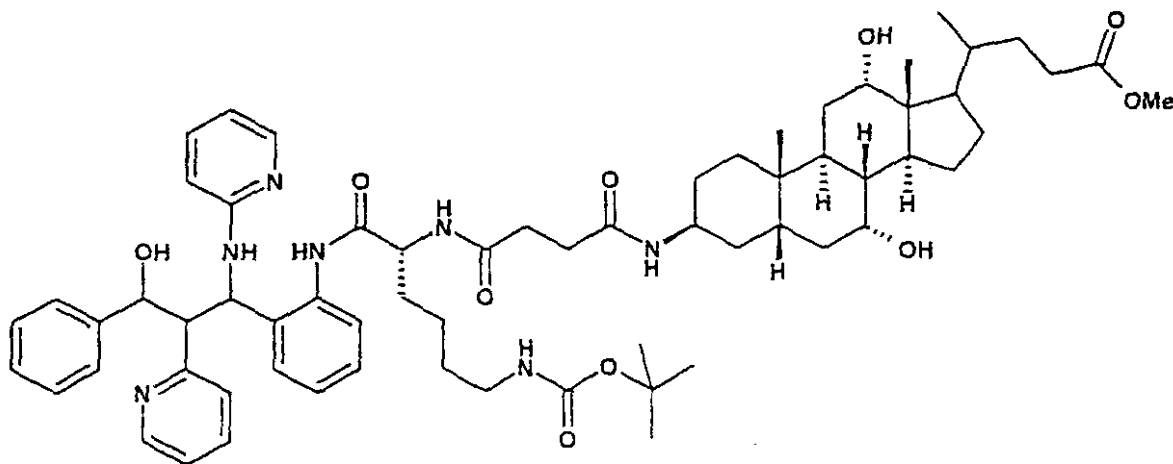


5.0 g (11.86 mmol) 3 β -Aminocholsäuremethylester (Europäische Patentanmeldung EP 0614908), 1,3 g (13 mmol) Bernsteinsäureanhydrid und 16.5 ml Triethylamin wurden in 75 ml Tetrahydrofuran gelöst und 1 h bei Zimmertemperatur gerührt. Die Lösung wurde eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert, mit Ethylacetat extrahiert (3 x). Die organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO₄) und eingedampft.

Ausbeute: 5,8 g (94 %)

10 C₂₉H₄₇NO₇ (521.3) MS (FAB) 528 M + Li⁺

i.



4.0 g (6.4 mmol) der Verbindung aus Beispiel 1 g, 3.45 g (6.6 mmol)

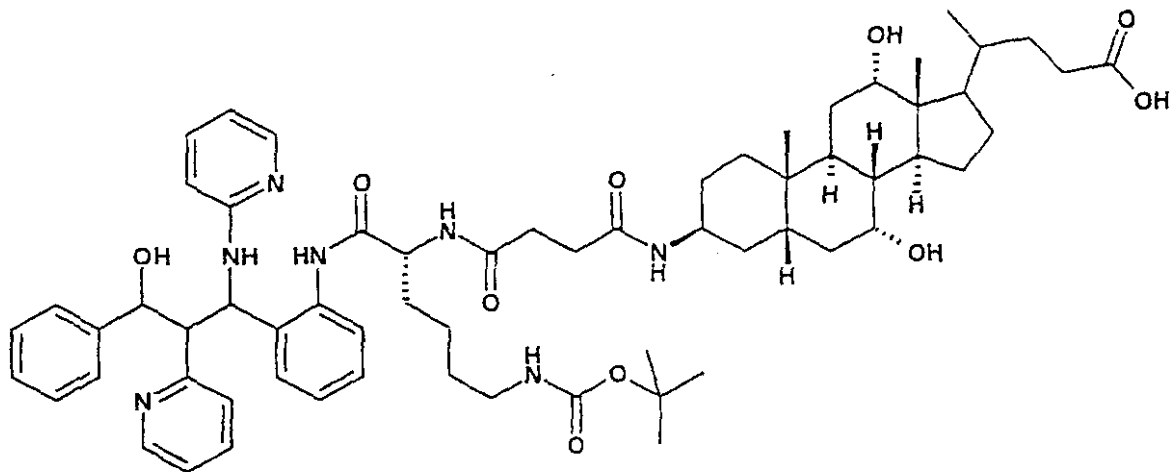
15 Gallensäurederivat aus Beispiel 1 h, 1.2 ml Triethylamin, 2.16 g (16 mmol) Hydroxybenzotriazol und 2.56 g Dicyclohexylcarbodiimid (12.4 mmol) wurden in 250 ml Tetrahydrofuran gelöst und 5 h bei Zimmertemperatur gerührt. Das Gemisch wurde eingedampft, der Rückstand in Ethylacetat gelöst und mit NaHCO₃-Lösung

gewaschen. Die organischen Phasen wurden getrocknet (MgSO_4) und eingedampft. Chromatographie über Kieselgel (Dichlormethan/Methanol 19:1, dann 9:1) ergab 3.1 g (43 %) Produkt.

$\text{C}_{65}\text{H}_{89}\text{N}_7\text{O}_{10}$ (1127.7) MS (FAB) 1134.7 M + Li^+

5

j.

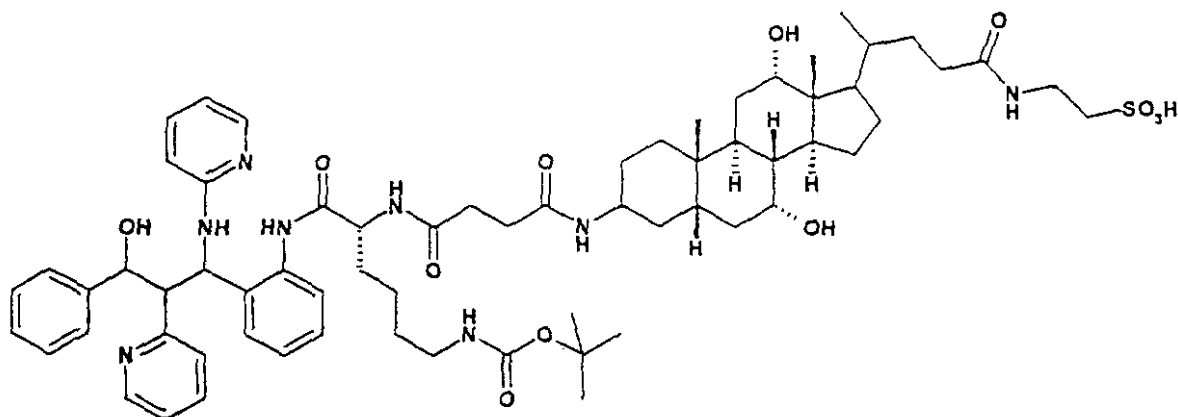


3.1 g (2.75 mmol) Methylester aus Beispiel 1 i wurden in 200 ml Ethanol gelöst, mit 31 ml 1N NaOH-Lösung versetzt und 5 h bei Zimmertemperatur gerührt. Das Gemisch wurde eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und mit gesättigter NaH_2PO_4 -Lösung versetzt. Es wurde mit Ethylacetat extrahiert (2 x), die organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wurde über Kieselgel chromatographiert (Dichlormethan/Methanol 4:1).

Ausbeute: 2.25 g (73 %)

15 $\text{C}_{64}\text{H}_{87}\text{N}_7\text{O}_{10}$ (1113.7) MS (FAB) 1120.7 M + Li^+

k.



1.5 g (1.35 mmol) der Verbindung aus Beispiel 1 j und 0.81 ml Triethylamin wurden bei 0° C mit 0.48 ml Chlorameisensäureethylester versetzt und 10 min gerührt.

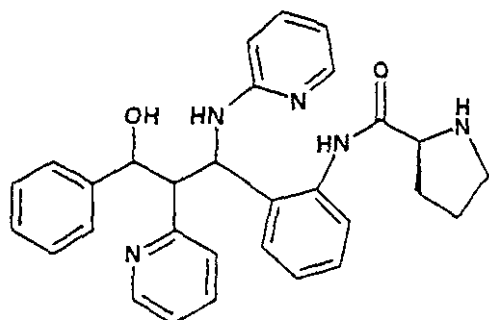
- 5 Danach wurden 0.6 g Taurin, gelöst in 30 ml 0.1 N NaOH-Lösung, zugegeben und 24 h bei Zimmertemperatur gerührt. Das Gemisch wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und zu gesättigter NaH₂PO₄-Lösung gegossen. Es wurde mit Ethylacetat extrahiert (3 x), die organischen Phasen mit MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Nach Chromatographie über Kieselgel
- 10 (Dichlormethan/Methanol 4:1, dann Methanol) wurden 0.98 g (60 %) Taurinkonjugat erhalten.

C₆₆H₉₂N₈O₁₂S (1270.7) MS (FAB) 1243.6 M + Na⁺

Beispiel 2

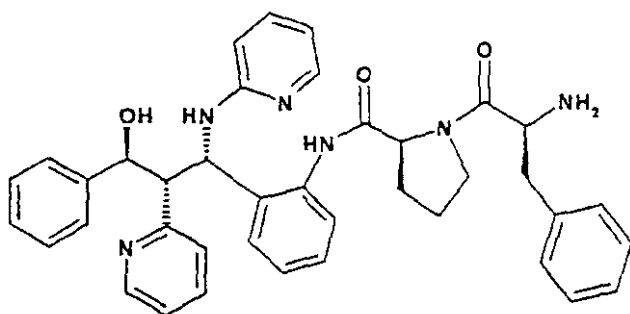
15

a.



2.5 g (6.31 mmol) Aminoverbindung aus Beispiel 1 e (unpolares Racemat), 2.2 g (6.52 mmol) Fmoc-L-Prolin, 2.5 g (7.62 mmol) TOTU und 1.7 ml Triethylamin

c.



0.8 g (0.93 mmol) Verbindung aus Beispiel 2 b/2 wurden in 33 ml DMF/Piperidin

5 10:1 gelöst und 1 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand über Kieselgel chromatographiert (Dichlormethan/Methanol 19:1, dann 9:1).

Ausbeute: 0.35 g (59 %).

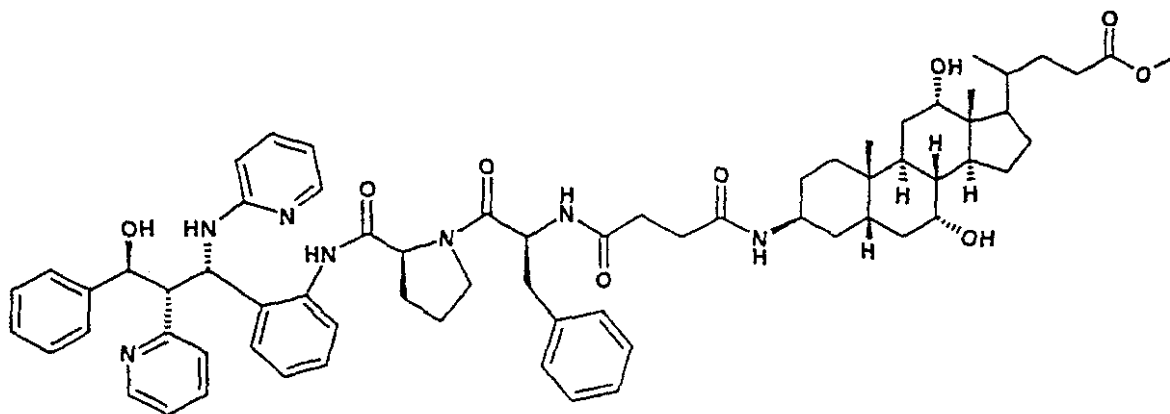
$C_{39}H_{40}N_6O_3$ (640.3)

MS (FAB) 641.3

$M + H^+$

10

d.



0.5 g (0.78 mmol) der Verbindung aus Beispiel 2 c, 0.45 g (0.86 mmol) des

Gallensäurederivats aus Beispiel 1 h wurden nach dem für Beispiel 1 i

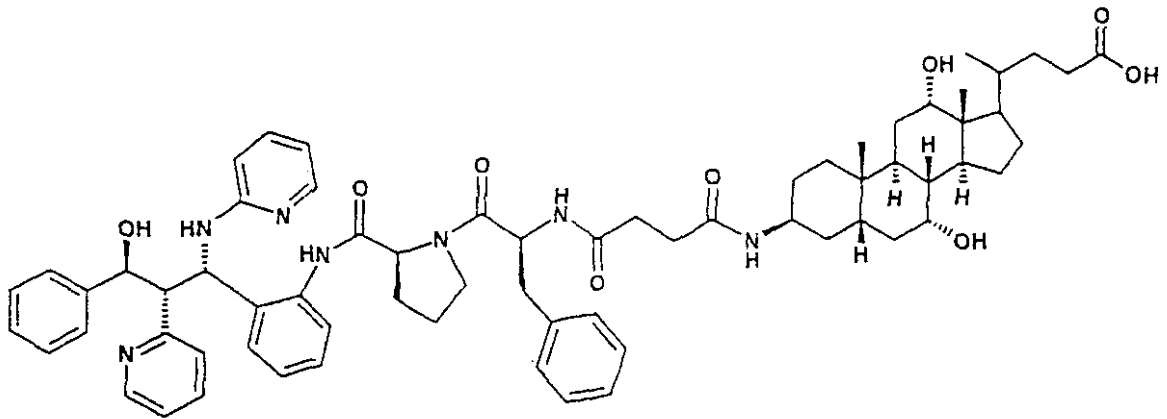
15 beschriebenen Verfahren zur Reaktion gebracht. Es wurden 0.38 g (43 %) Produkt erhalten.

$C_{68}H_{85}N_7O_9$ (1143.6)

MS (FAB) 1144.6

$M + H^+$

e.



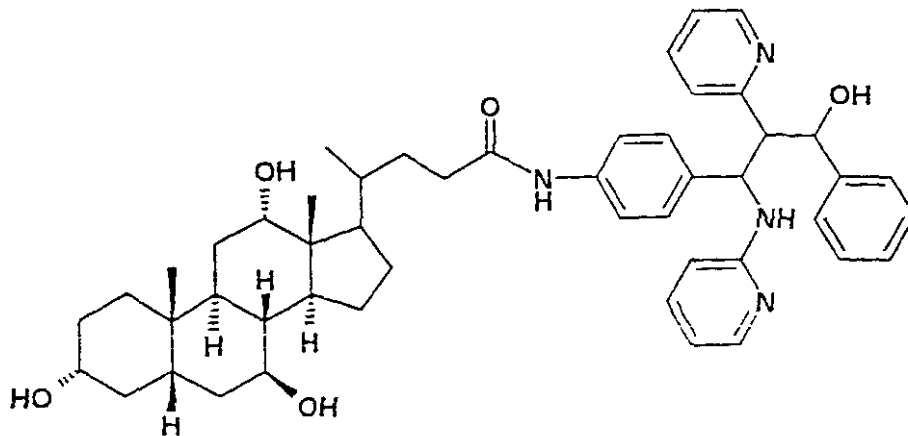
0.31 g (0.27 mmol) des Methylesters aus Beispiel 1 d wurden in 30 ml Ethanol gelöst, mit 3.0 ml 1N NaOH-Lösung versetzt und 12 h bei Zimmertemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingedampft und der Rückstand über Kieselgel chromatographiert (Dichlormethan/Methanol 4:1).

5

Ausbeute: 220 mg (72 %)

$C_{67}H_{83}N_7O_9$ (1129.6) MS (FAB) 1130.6 $M + H^+$

10 Beispiel 3



0.3 g (0.78 mmol) 3-(4-Aminophenyl)-1-phenyl-2-pyridin-2-yl-3-(pyridin-2-ylamino)-propan-1-ol (Herstellung analog zu Beispiel 1 e), 0.34 g (0.83 mmol) Ursocholsäure, 0.34 g (2.52 mmol) Hydroxybenzotriazol, 0.41 g (2 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 0.15 ml Triethylamin wurden in 50 ml Tetrahydrofuran 2 Tage bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wurden die Feststoffe

15

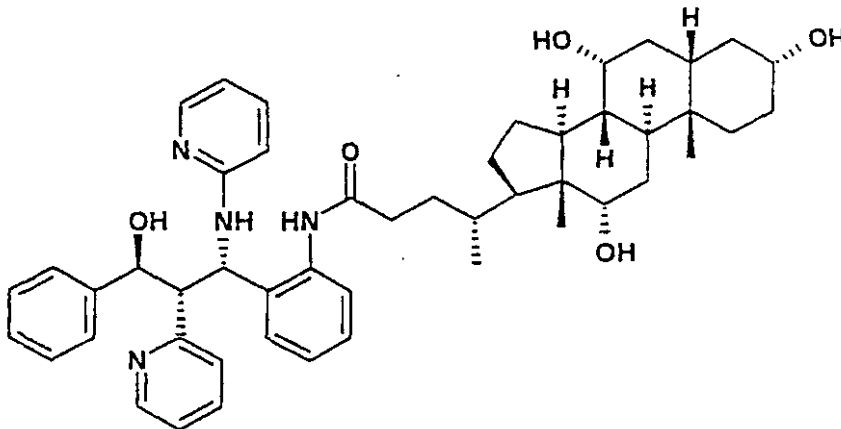
abfiltriert. Die Lösung wurde eingedampft und der Rückstand über Kieselgel chromatographiert (Dichlormethan/Methanol 9:1, dann 17:3). Es wurden 0.33 g (55 %) Produkt erhalten.

$C_{49}H_{62}N_4O_5$ (786.5) MS (FAB) 787.5 $M + H^+$

5

Ausgehend von den entsprechenden Ausgangsverbindungen wurden in Analogie zu den Beispielen 1 bis 3 die Beispiele 4 bis 14 erhalten.

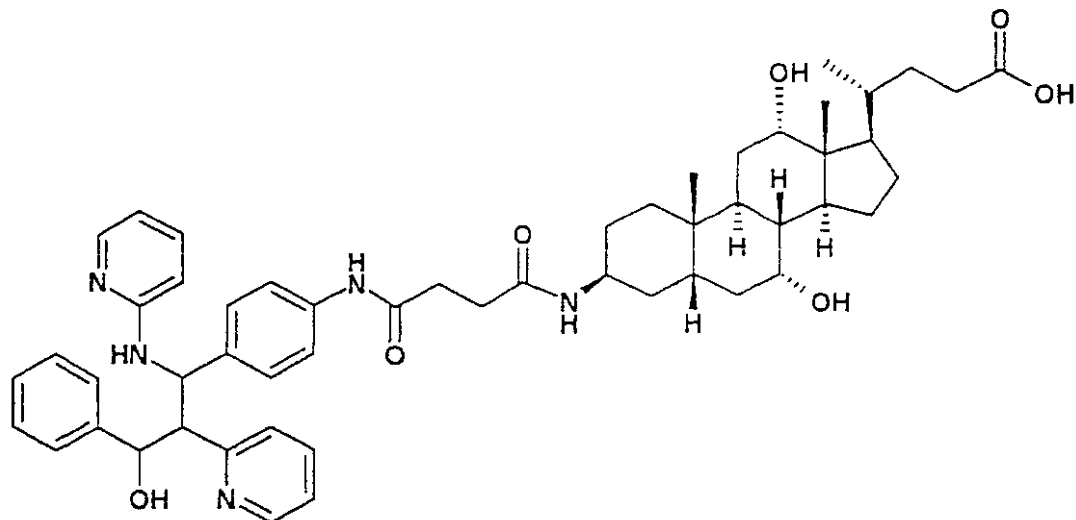
Beispiel 4



10

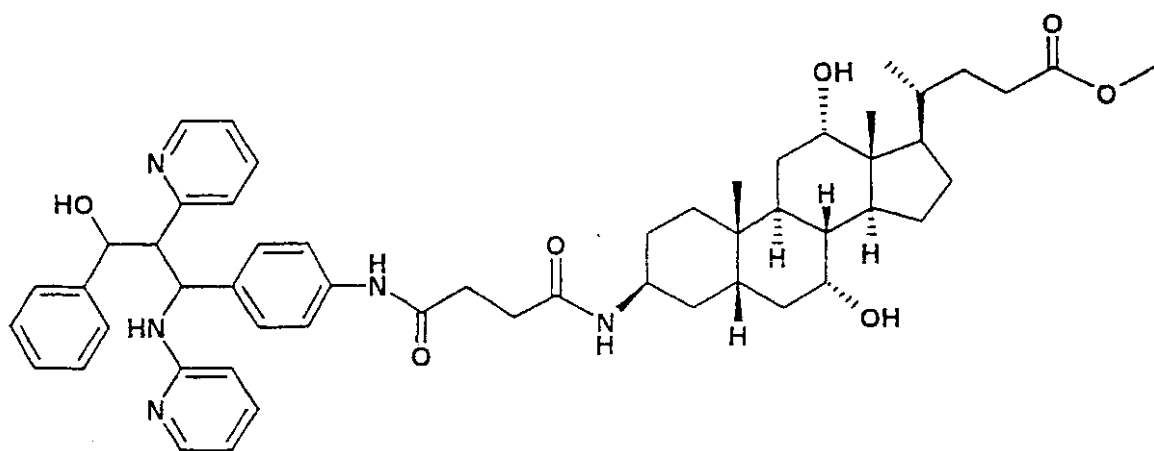
$C_{49}H_{62}N_4O_5$ (787,1) MS (FAB) 788,1 $M+H^+$

Beispiel 5 (unpolares Diastereomer)



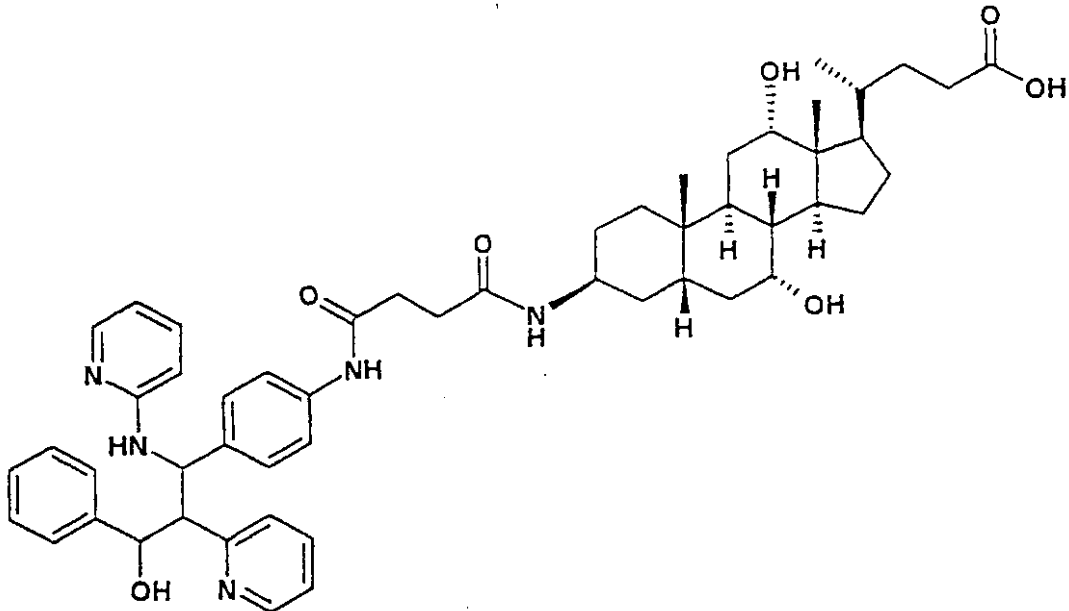
$C_{53}H_{67}N_5O_7$ (886,2) MS (FAB) 887,2 $M+H^+$

5 Beispiel 6



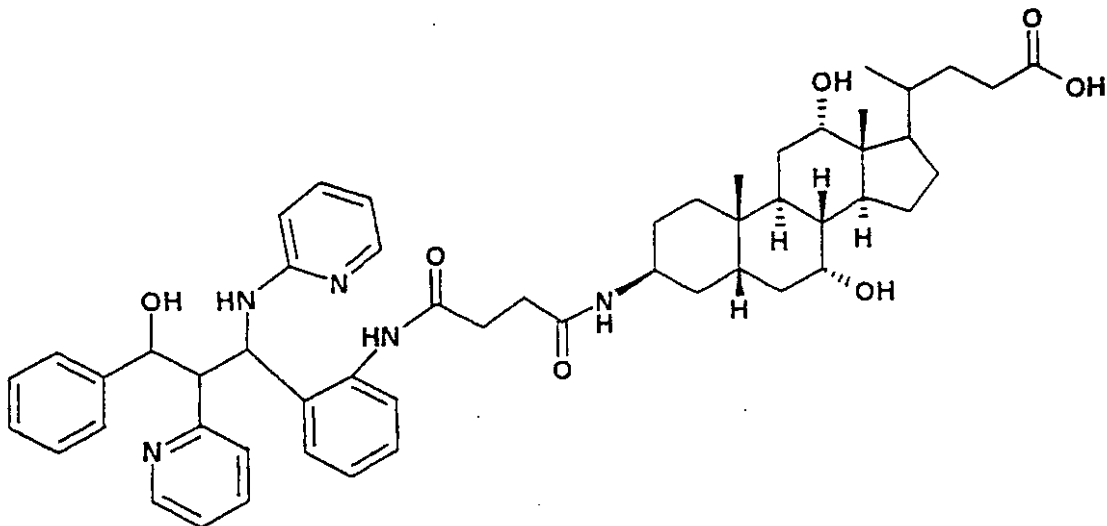
$C_{54}H_{69}N_5O_7$ (900,2) MS (FAB) 901,2 $M+H^+$

Beispiel 7 (polares Diastereomer)



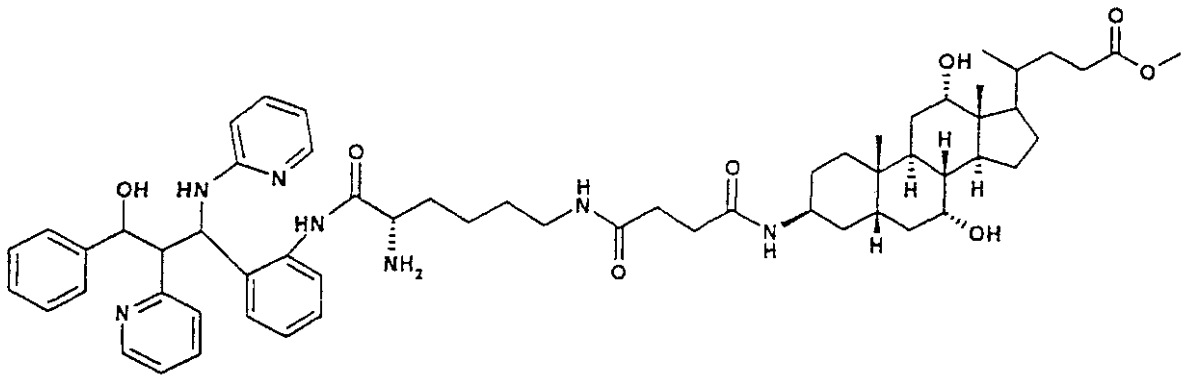
$C_{53}H_{67}N_5O_7$ (886,2) MS (FAB) 887,2 $M+H^+$

5 Beispiel 8



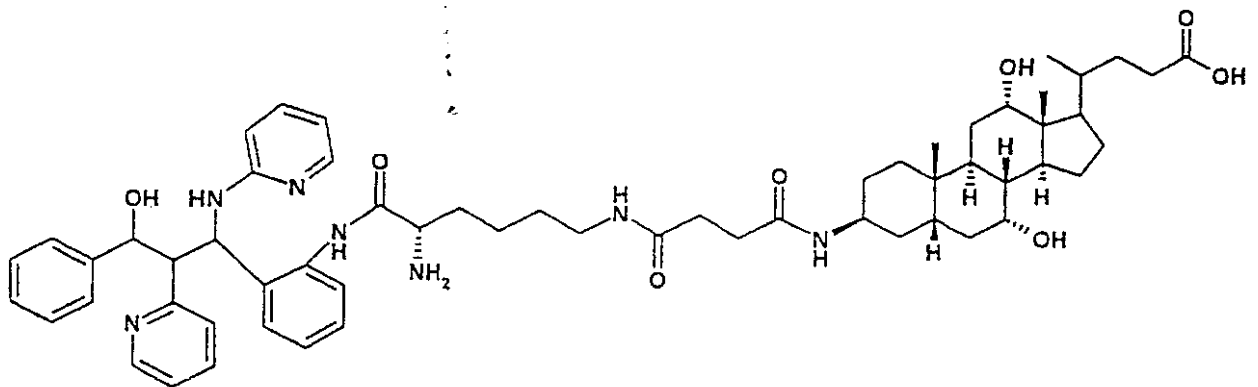
$C_{53}H_{67}N_5O_7$ (886,2) MS (FAB) 887,2 $M+H^+$

Beispiel 9



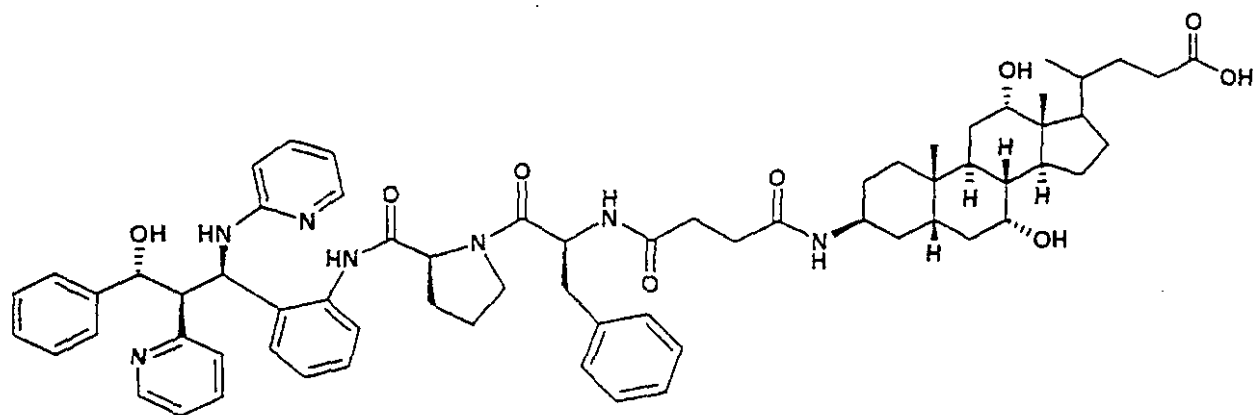
$C_{60}H_{81}N_7O_8$ (1028,4) MS (FAB) 1029,4 $M+H^+$

5 Beispiel 10



$C_{59}H_{79}N_7O_8$ (1014,3) MS (FAB) 1015,3 $M+H^+$

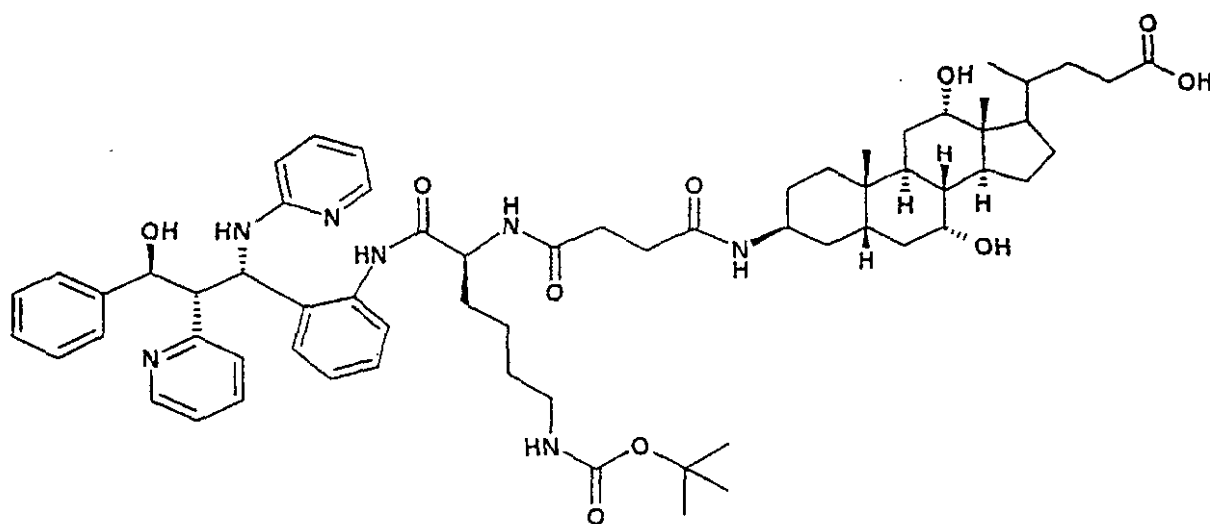
Beispiel 11



$C_{67}H_{83}N_7O_9$ (1130,5) MS (FAB) 1031,5 $M+H^+$

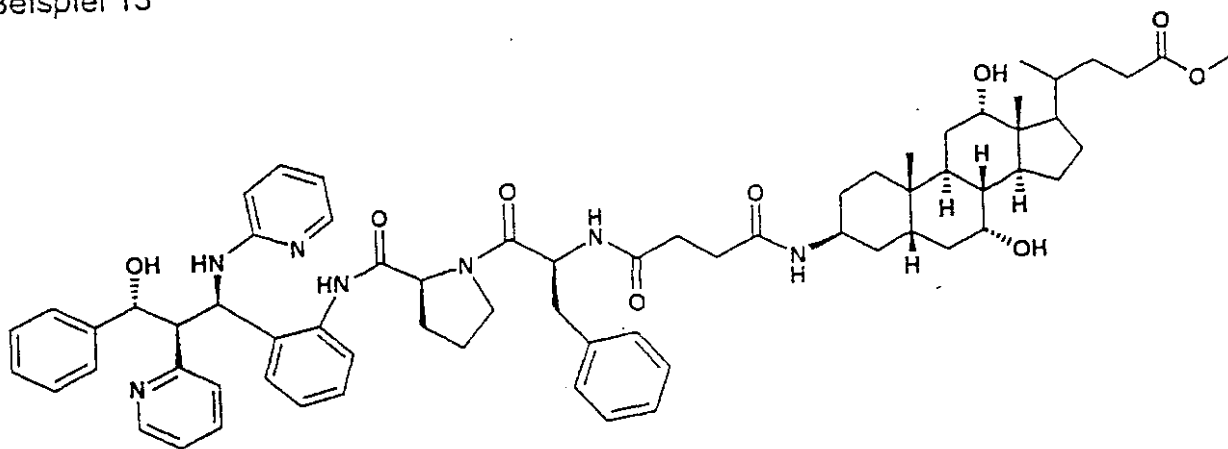
5

Beispiel 12



$C_{64}H_{87}N_7O_{10}$ (1114,4) MS (FAB) 1115,4 $M+H^+$

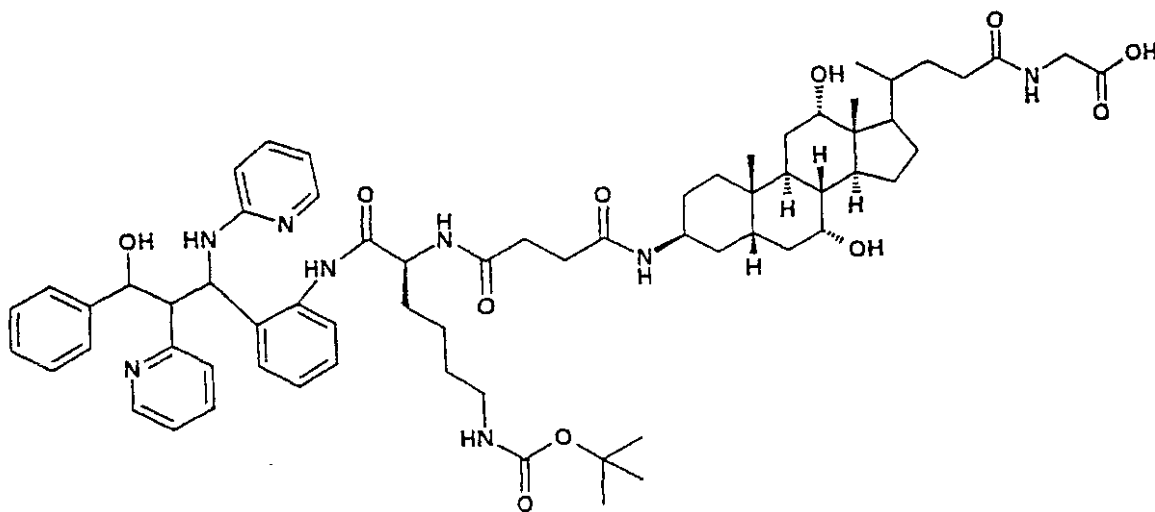
Beispiel 13



$C_{68}H_{85}N_7O_9$ (1144,5) MS (FAB) 1145,5 $M+H^+$

5

Beispiel 14



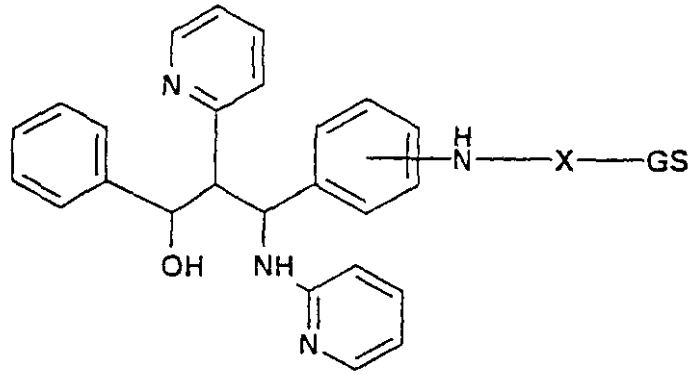
10

15

$C_{66}H_{90}N_8O_{11}$ (1171,5) MS (FAB) 1172,5 $M+H^+$

Patentansprüche:

1. Verbindungen der Formel I,

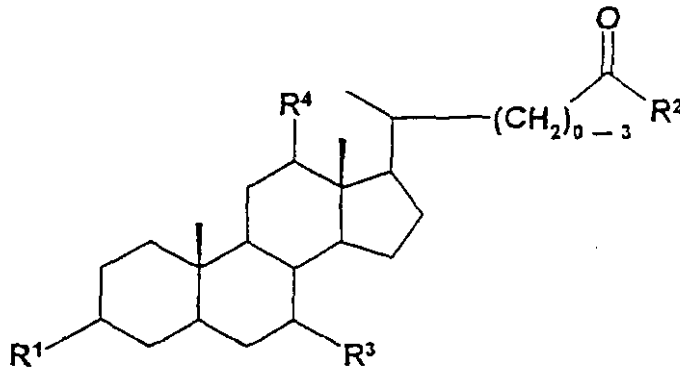


5

I

worin bedeuten

GS eine Gallensäuregruppe der Formel



10

R¹ eine Bindung zu X, OH;

R² eine Bindung zu X, OH, O-(C₁-C₆)-Alkyl, NH-(C₂-C₆)-Alkyl-SO₃H,
 15 N(CH₃)-CH₂-CH₂-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-Alkyl-COOH; N(CH₃)-(C₁-C₆)-Alkyl-COOH;

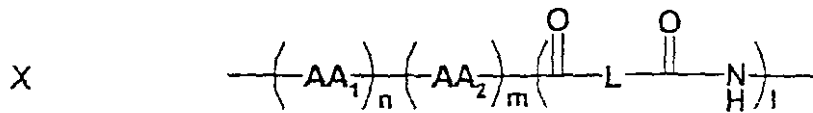
mit der Maßgabe, daß R¹ und R² nicht gleichzeitig die folgende Bedeutung haben

R¹ eine Bindung zu X und

R² eine Bindung zu X;

R³, R⁴ unabhängig voneinander H, OH;

5



oder eine Bindung;

l, m, n unabhängig voneinander 0 oder 1;

10

L (C₁ - C₆)-Alkyl, Phenyl;

AA₁, AA₂ unabhängig voneinander einen Aminosäurerest oder einen Aminosäurerest, der einfach oder mehrfach substituiert ist durch eine Aminosäureschutzgruppe;

15

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze und physiologisch funktionelle Derivate.

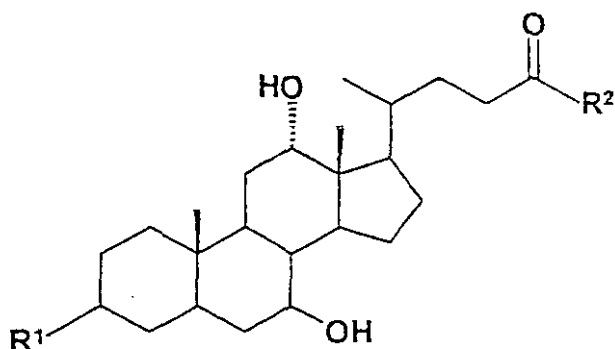
L (C₁ - C₆)-Alkyl, Phenyl;

AA₁, AA₂ unabhängig voneinander einen Aminosäurerest oder einen
 5 Aminosäurerest, der einfach oder mehrfach substituiert ist durch eine
 Aminosäureschutzgruppe;

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze und physiologisch funktionelle
 Derivate.

10 3. Verbindungen der Formel I, gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch
 gekennzeichnet, daß darin bedeuten

GS eine Gallensäuregruppe der Formel



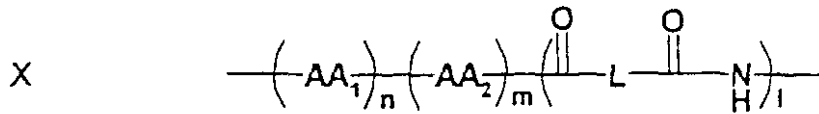
15

R¹ eine Bindung zu X, OH;

R² eine Bindung zu X, OH, O-(C₁-C₆)-Alkyl, NH-(C₂-C₆)-Alkyl-SO₃H, NH-
 20 (C₁-C₆)-Alkyl-COOH;

mit der Maßgabe, daß R¹ und R² nicht gleichzeitig die folgende Bedeutung haben

R¹ eine Bindung zu X und
 25 R² eine Bindung zu X;



oder eine Bindung;

l, m, n unabhängig voneinander 0 oder 1;

5

L (C₁ - C₆)-Alkyl;

AA₁, AA₂ unabhängig voneinander einen Aminosäurerest oder einen Aminosäurerest, der einfach oder mehrfach substituiert ist durch eine Aminosäureschutzgruppe;

10

sowie deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

4. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere der Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3.

15

5. Arzneimittel enthaltend eine oder mehrere der Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 und ein oder mehrere lipidsenkende Wirkstoffe.

20

6. Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Anwendung als Medikament zur Prophylaxe oder Behandlung von Lipidstoffwechselstörungen.

7. Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Anwendung als Medikament zur Behandlung von Hyperlipidämie.
8. Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Anwendung als Medikament zur Prophylaxe oder Behandlung von arteriosklerotischer Erscheinungen.
9. Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 in Kombination mit mindestens einem weiteren lipidsenkenden Wirkstoff zur Anwendung als Medikament zur Prophylaxe oder Behandlung von Lipidstoffwechselstörungen.
10. Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 in Kombination mit mindestens einem weiteren lipidsenkenden Wirkstoff als Medikament zur Behandlung von Hyperlipidämie.
11. Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 in Kombination mit mindestens einem weiteren lipidsenkenden Wirkstoff zur Anwendung als Medikament zur Prophylaxe oder Behandlung von arteriosklerotischer Erscheinungen.
12. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels enthaltend eine oder mehrere der Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff mit einem pharmazeutisch geeigneten Träger vermischt wird und diese Mischung in eine für die Verabreichung geeignete Form gebracht wird.
13. Verwendung der Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Medikaments zur Prophylaxe oder Behandlung von Lipidstoffwechselstörungen.

14. Verwendung der Verbindungen gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Hyperlipidämie.

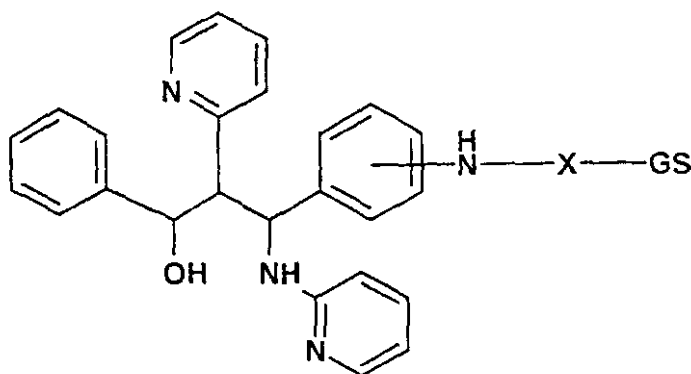
Zusammenfassung

Mit Gallensäuren verknüpfte Propanolaminderivate, Verfahren zu deren Herstellung, diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung

5

Die Erfindung betrifft substituierte Propanolaminderivate und deren pharmazeutisch verträgliche Salze und physiologisch funktionelle Derivate.

Es werden Verbindungen der Formel I,



10

I

worin die Reste die angegebenen Bedeutungen haben, sowie deren physiologisch verträgliche Salze, physiologisch funktionelle Derivate und Verfahren zu deren Herstellung beschrieben. Die Verbindungen eignen sich z.B. als Hypolipidämika.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.

PCT/EP 99/06930

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C07J43/00 C07K5/065 A61K31/575

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 7 C07J C07K C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 610 151 A (GLOMBIK HEINER ET AL) 11 March 1997 (1997-03-11) see compounds of formula I as mentioned in column 1 ---	1-14
A	EP 0 624 593 A (HOECHST AG) 17 November 1994 (1994-11-17) claim 1 ---	1-14
A	EP 0 489 423 A (HOECHST AG) 10 June 1992 (1992-06-10) cited in the application claim 1 ---	1-14
A	EP 0 345 591 A (HOFFMANN LA ROCHE) 13 December 1989 (1989-12-13) claim 1 ---	1-14
-/--		

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

14 February 2000

21/02/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 551 epc nl
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Steendijk, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 99/06930

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
P,X	EP 0 869 121 A (HOECHST MARION ROUSSEL DE GMBH) 7 October 1998 (1998-10-07) claim 1 -----	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/06930

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5610151	A	11-03-1997	AT 183191 T	15-08-1999
			AU 673419 B	07-11-1996
			AU 6194994 A	10-11-1994
			CA 2123052 A	09-11-1994
			CZ 9401137 A	16-11-1994
			DE 59408602 D	16-09-1999
			EP 0624594 A	17-11-1994
			FI 942077 A	09-11-1994
			HU 67574 A	28-04-1995
			IL 109580 A	12-03-1999
			JP 7002891 A	06-01-1995
			NO 941680 A	09-11-1994
			NZ 260471 A	27-04-1995
EP 0624593	A	17-11-1994	AU 667009 B	29-02-1996
			AU 6194894 A	10-11-1994
			CA 2123050 A	09-11-1994
			CZ 9401136 A	16-11-1994
			FI 942076 A	09-11-1994
			HU 67522 A	28-04-1995
			JP 7304792 A	21-11-1995
			NO 941679 A	09-11-1994
			NZ 260470 A	26-09-1995
EP 0489423	A	10-06-1992	AT 144988 T	15-11-1996
			AU 649089 B	12-05-1994
			CA 2057099 A	07-06-1992
			CS 9103697 A	17-06-1992
			DE 59108326 D	12-12-1996
			DK 489423 T	14-04-1997
			ES 2096614 T	16-03-1997
			FI 915719 A	07-06-1992
			GR 3021572 T	28-02-1997
			HR 940751 A	30-04-1997
			HU 213402 B	30-06-1997
			HU 9500553 A	30-10-1995
			IL 100240 A	31-10-1995
			JP 5294988 A	09-11-1993
			NO 304187 B	09-11-1998
			NZ 240846 A	27-04-1994
			PT 99713 A, B	30-10-1992
			SI 9111899 A	30-04-1998
US 5250524 A	05-10-1993			
ZA 9109605 A	26-08-1992			
EP 0345591	A	13-12-1989	AT 87610 T	15-04-1993
			AU 622907 B	30-04-1992
			AU 3602689 A	14-12-1989
			DK 284289 A	11-12-1989
			ES 2053866 T	01-08-1994
			FI 892341 A	11-12-1989
			HU 55344 A	28-05-1991
			JP 2036158 A	06-02-1990
			MC 2042 A	30-05-1990
			NO 892387 A, B,	11-12-1989
			NZ 229456 A	25-02-1992
			PH 26237 A	01-04-1992
			PT 90802 A, B	29-12-1989

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/EP 99/06930

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0345591 A		US 5045567 A	03-09-1991
		YU 118389 A	30-06-1991
		ZA 8904210 A	28-03-1990
EP 0869121 A	07-10-1998	DE 19802530 A	29-07-1999
		AU 6062498 A	08-10-1998
		CA 2233925 A	04-10-1998
		CN 1199731 A	25-11-1998
		CZ 9801025 A	14-10-1998
		HU 9800781 A	28-06-1999
		JP 10287651 A	27-10-1998
		NZ 330110 A	29-03-1999
		PL 325699 A	12-10-1998
		US 5874451 A	23-02-1999
		ZA 9802849 A	05-10-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/06930

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 C07J43/00 C07K5/065 A61K31/575

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 C07J C07K C07D A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 610 151 A (GLOMBIK HEINER ET AL) 11. März 1997 (1997-03-11) Siehe formel verbindungen wie in Spalte 1 erwähnt ---	1-14
A	EP 0 624 593 A (HOECHST AG) 17. November 1994 (1994-11-17) Anspruch 1 ---	1-14
A	EP 0 489 423 A (HOECHST AG) 10. Juni 1992 (1992-06-10) in der Anmeldung erwähnt Anspruch 1 ---	1-14
A	EP 0 345 591 A (HOFFMANN LA ROCHE) 13. Dezember 1989 (1989-12-13) Anspruch 1 ---	1-14
	-/--	

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

14. Februar 2000

21/02/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P. B. 5218 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040; Tx. 31 651 600 nl
 Fax: (+31-70) 340-3016

Befullmächtigter Bediensteter

Steendijk, M

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/06930

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	EP 0 869 121 A (HOECHST MARION ROUSSEL DE GMBH) 7. Oktober 1998 (1998-10-07) Anspruch 1 -----	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktienzeichen

PCT/EP 99/06930

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglieder) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5610151	A	11-03-1997	AT	183191 T	15-08-1999
			AU	673419 B	07-11-1996
			AU	6194994 A	10-11-1994
			CA	2123052 A	09-11-1994
			CZ	9401137 A	16-11-1994
			DE	59408602 D	16-09-1999
			EP	0624594 A	17-11-1994
			FI	942077 A	09-11-1994
			HU	67574 A	28-04-1995
			IL	109580 A	12-03-1999
			JP	7002891 A	06-01-1995
			NO	941680 A	09-11-1994
			NZ	260471 A	27-04-1995
			EP 0624593	A	17-11-1994
AU	6194894 A	10-11-1994			
CA	2123050 A	09-11-1994			
CZ	9401136 A	16-11-1994			
FI	942076 A	09-11-1994			
HU	67522 A	28-04-1995			
JP	7304792 A	21-11-1995			
NZ	260470 A	26-09-1995			
EP 0489423	A	10-06-1992	AT	144988 T	15-11-1996
			AU	649089 B	12-05-1994
			CA	2057099 A	07-06-1992
			CS	9103697 A	17-06-1992
			DE	59108326 D	12-12-1996
			DK	489423 T	14-04-1997
			ES	2096614 T	16-03-1997
			FI	915719 A	07-06-1992
			GR	3021572 T	28-02-1997
			HR	940751 A	30-04-1997
			HU	213402 B	30-06-1997
			HU	9500553 A	30-10-1995
			IL	100240 A	31-10-1995
			JP	5294988 A	09-11-1993
			NO	304187 B	09-11-1998
			NZ	240846 A	27-04-1994
			PT	99713 A, B	30-10-1992
SI	9111899 A	30-04-1998			
US	5250524 A	05-10-1993			
ZA	9109605 A	26-08-1992			
EP 0345591	A	13-12-1989	AT	87610 T	15-04-1993
			AU	622907 B	30-04-1992
			AU	3602689 A	14-12-1989
			DK	284289 A	11-12-1989
			ES	2053866 T	01-08-1994
			FI	892341 A	11-12-1989
			HU	55344 A	28-05-1991
			JP	2036158 A	06-02-1990
			MC	2042 A	30-05-1990
			NO	892387 A, B,	11-12-1989
			NZ	229456 A	25-02-1992
			PH	26237 A	01-04-1992
			PT	90802 A, B	29-12-1989

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/06930

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0345591 A		US 5045567 A YU 118389 A ZA 8904210 A	03-09-1991 30-06-1991 28-03-1990
EP 0869121 A	07-10-1998	DE 19802530 A AU 6062498 A CA 2233925 A CN 1199731 A CZ 9801025 A HU 9800781 A JP 10287651 A NZ 330110 A PL 325699 A US 5874451 A ZA 9802849 A	29-07-1999 08-10-1998 04-10-1998 25-11-1998 14-10-1998 28-06-1999 27-10-1998 29-03-1999 12-10-1998 23-02-1999 05-10-1998

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07J 43/00

C07K 5/065 A61K 31/575

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99811634.3

[43] 公开日 2001 年 11 月 7 日

[11] 公开号 CN 1321166A

[22] 申请日 1999.9.18 [21] 申请号 99811634.3

[30] 优先权

[32] 1998.10.2 [33] DE [31] 19845403.1

[86] 国际申请 PCT/EP99/06930 1999.9.18

[87] 国际公布 WO00/20437 德 2000.4.13

[85] 进入国家阶段日期 2001.3.30

[71] 申请人 阿文蒂斯药物德国有限公司

地址 德国法兰克福

[72] 发明人 S·斯坦格林 A·恩森

H·格罗姆毕克 W·卡拉默

E·法尔克

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所

代理人 杜京英

1HC 0/0877

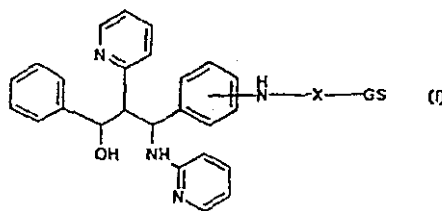
C 0/0494

权利要求书 5 页 说明书 29 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 用于治疗脂代谢紊乱的与胆汁酸相连的丙醇胺类衍生物

[57] 摘要

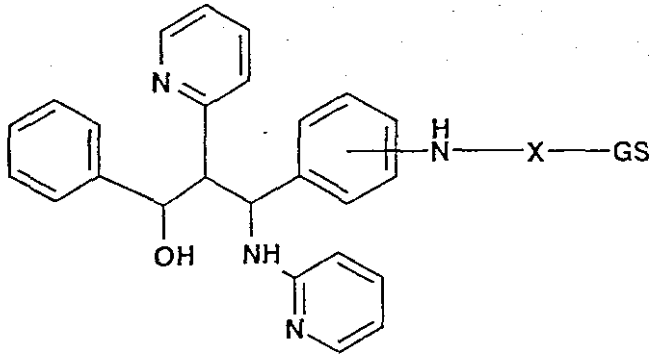
本发明涉及取代丙醇胺衍生物及其可药用盐和生理功能的衍生物。本发明涉及式(I)的化合物及其生理可接受盐、生理可接受衍生物,其中基团具有所定义的含义,和它们的制备方法。该化合物适合例如作为促血清脂质减少剂。



ISSN 1008-4274

权利要求书

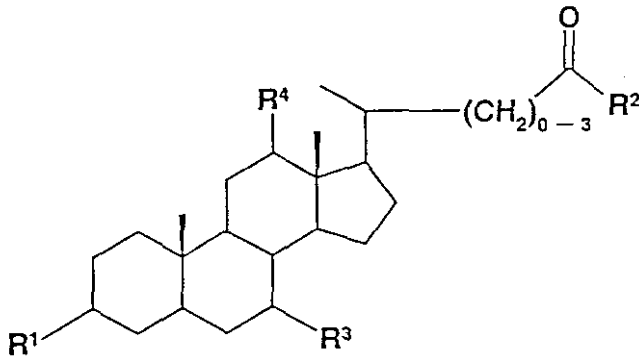
1. 式 I 的化合物:



I

其中

GS 是下式的胆汁酸基团,



R^1 是与 X 相连的键, OH;

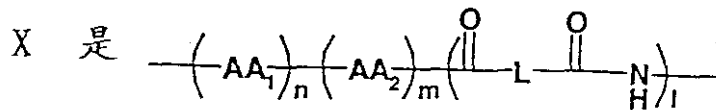
R^2 是与 X 相连的键, OH, O-(C₁-C₆)-烷基, NH-(C₂-C₆)-烷基-SO₃H, N(CH₃)-CH₂-CH₂-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-烷基-COOH; N(CH₃)-(C₁-C₆)-烷基-COOH;

条件是 R^1 和 R^2 不同时具有以下含义:

R^1 与 X 相连的键, 和

R^2 与 X 相连的键;

R^3, R^4 彼此独立地是 H, OH;



或化学键;

l, m, n 彼此独立地是 0 或 1;

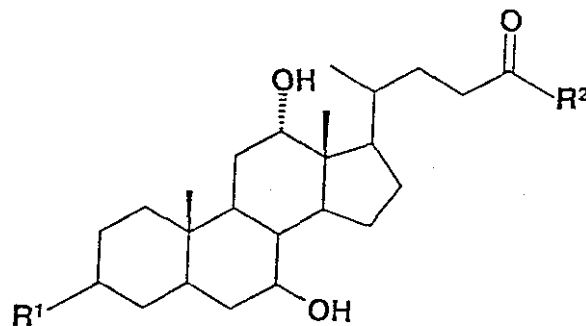
L (C₁-C₆)-烷基, 苯基;

AA₁, AA₂彼此独立地是氨基酸基团或被氨基酸保护基单取代或多取代的氨基酸基团;

以及它们的可药用盐和生理功能衍生物。

2. 权利要求 1 所述的式 I 化合物, 其中

GS 是下式的胆汁酸基团,



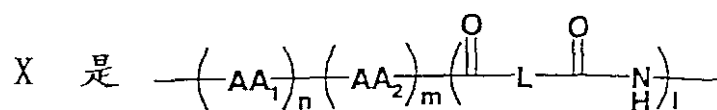
R¹ 是与 X 相连的键, OH;

R² 是与 X 相连的键, OH, O-(C₁-C₆)-烷基, NH-(C₂-C₆)-烷基-SO₃H, N(CH₃)-CH₂-CH₂-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-烷基-COOH; N(CH₃)-(C₁-C₆)-烷基-COOH;

条件是 R¹ 和 R² 不同时具有以下含义:

R¹ 与 X 相连的键, 和

R² 与 X 相连的键;



或化学键;

l, m, n 彼此独立地是 0 或 1;

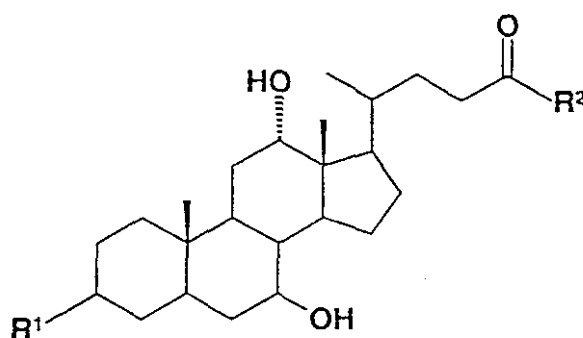
L 是 (C₁-C₆)-烷基, 苯基;

AA₁, AA₂ 彼此独立地是氨基酸基团或被氨基酸保护基单取代或多取代的氨基酸基团;

以及它们的可药用盐和生理功能衍生物。

3. 权利要求 1 或 2 所述的式 I 化合物, 其中

GS 是下式的胆汁酸基团,



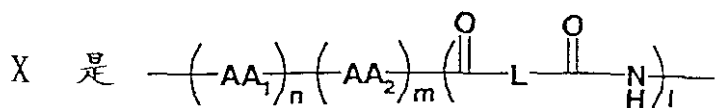
R¹ 是与 X 相连的键, OH;

R² 是与 X 相连的键, OH, O-(C₁-C₆)-烷基, NH-(C₂-C₆)-烷基-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-烷基-COOH;

条件是 R¹ 和 R² 不同时具有以下含义:

R¹ 与 X 相连的键, 和

R² 与 X 相连的键;



或化学键;

l, m, n 彼此独立地是 0 或 1;

L 是 (C₁-C₆)-烷基;

AA₁, AA₂ 彼此独立地是氨基酸基团或被氨基酸保护基单取代或多取代的氨基酸基团;

和它们的可药用盐。

4. 含有权利要求 1-3 一项或多项中所述的一种或多种化合物的药物。

5. 含有权利要求 1-3 一项或多项中所述的一种或多种化合物和一种或多种降脂活性化合物的药物

6. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物用作预防或治疗脂代谢紊乱的药物。

7. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物用作治疗高脂血症的药物。

8. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物用作预防或治疗动脉硬化症的药物。

9. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物与至少一种其他降脂活性化合物联合用作预防或治疗脂代谢紊乱的药物。

10. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物与至少一种其他降脂活性化合物联合作为治疗高脂血症的药物。

11. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物与至少一种其他降脂活性化合物联合用作预防或治疗动脉硬化症的药物。

12. 制备含有一种或多种权利要求 1-3 一项或多项中所述化合物的药物的方法, 其中包括将所述活性化合物与适合药用的赋形剂混合并且使该混合物成为适于给药的形式。

13. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物在制备用于预防或治疗脂代谢紊乱的药物中的应用。

14. 权利要求 1-3 一项或多项中所述的化合物在制备用于治疗高脂血症的药物中的应用。

说明书

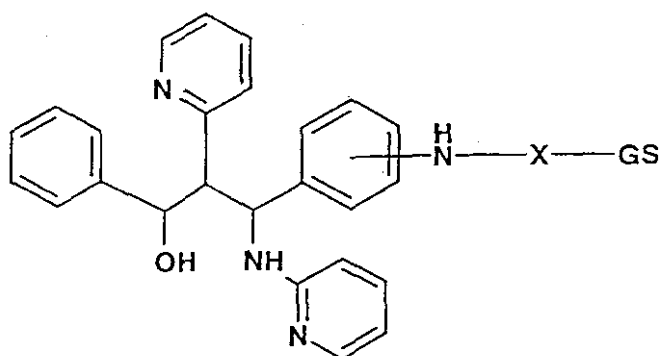
用于治疗脂代谢紊乱的与胆汁酸相连的丙醇胺类衍生物

本发明涉及取代丙醇胺类衍生物及其可药用盐和生理功能衍生物。业已公开了数类适用于治疗肥胖和脂代谢紊乱的活性化合物：

- 聚合物吸附剂，例如消胆胺，
- 苯并硫氮杂萘类化合物(WO 93/16055)，
- 胆酸二聚体和偶联物(EP 0489423)
- 4-氨基-2-脲基-嘧啶-5-甲酰胺类化合物(EP 0557879)

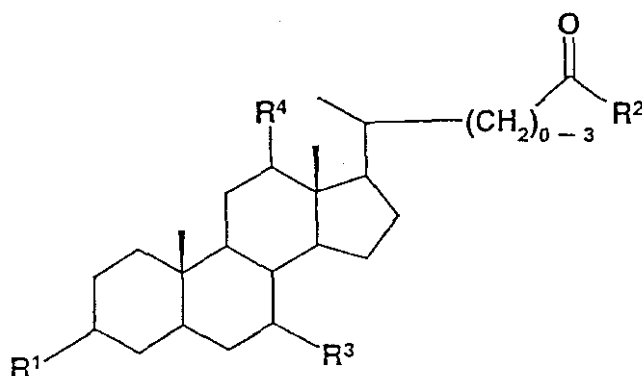
本发明是基于提供其他具有促血清脂质减少治疗作用的化合物的目的。

所以，本发明涉及式 I 的化合物：



其中

GS 是下式的胆汁酸基团，



R¹ 是与 X 相连的键, OH;

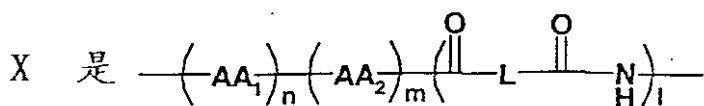
R² 是与 X 相连的键, OH, O-(C₁-C₆)-烷基, NH-(C₂-C₆) 烷基-SO₃H, N(CH₃)-CH₂-CH₂-SO₃H, NH-(C₁-C₆)-烷基-COOH; N(CH₃)-(C₁-C₆)-烷基-COOH;

条件是 R¹ 和 R² 不同时具有以下含义:

R¹ 与 X 相连的键, 和

R² 与 X 相连的键;

R³, R⁴ 彼此独立地是 H, OH;



或化学键;

l, m, n 彼此独立地是 0 或 1;

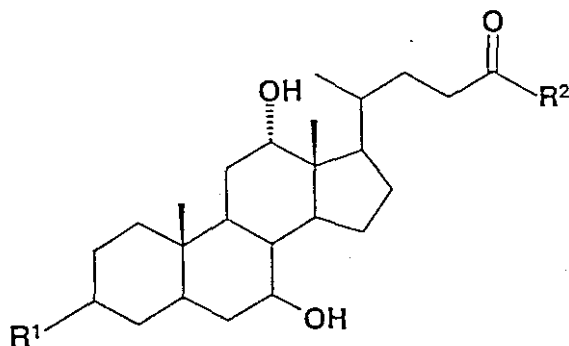
L 是 (C₁-C₆)-烷基, 苯基;

AA₁, AA₂ 彼此独立地是氨基酸基团或被氨基酸保护基单取代或多取代的氨基酸基团;

以及它们的可药用盐和生理功能衍生物。

优选的式 I 化合物是其中一个或多个基团具有以下含义的那些:

GS 是下式的胆汁酸基团,



R¹ 是与 X 相连的键, OH;

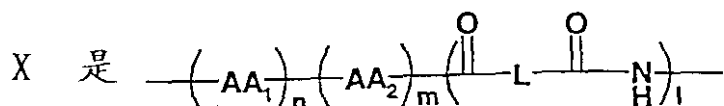
R² 是与 X 相连的键, OH, O-(C₁-C₆)-烷基, NH-(C₂-C₆) 烷基-SO₃H,

$N(CH_3)-CH_2-CH_2-SO_3H$, $NH-(C_1-C_6)-\text{烷基}-COOH$; $N(CH_3)-(C_1-C_6)-\text{烷基}-COOH$;

条件是 R^1 和 R^2 不同时具有以下含义:

R^1 与 X 相连的键, 和

R^2 与 X 相连的键;



或化学键;

l, m, n 彼此独立地是 0 或 1;

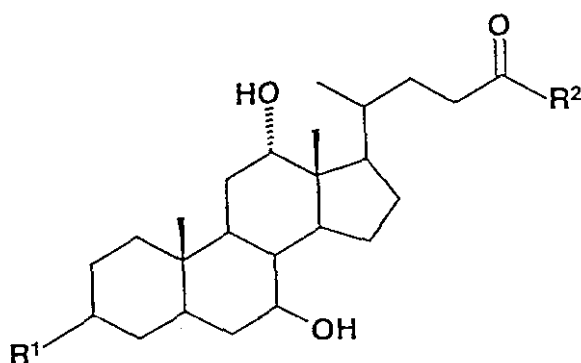
L 是 $(C_1-C_6)-\text{烷基}$, 苯基;

AA_1, AA_2 彼此独立地是氨基酸基团或被氨基酸保护基单取代或多取代的氨基酸基团;

以及它们的可药用盐和生理功能衍生物。

优选的式 I 化合物是其中一个或多个基团具有以下含义的那些:

GS 是下式的胆汁酸基团,



R^1 是与 X 相连的键, OH;

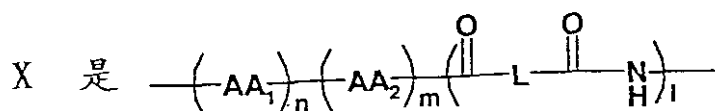
R^2 是与 X 相连的键, OH, $O-(C_1-C_6)-\text{烷基}$, $NH-(C_2-C_6)\text{烷基}-SO_3H$,

$NH-(C_1-C_6)-\text{烷基}-COOH$;

条件是 R^1 和 R^2 不同时具有以下含义:

R^1 与 X 相连的键, 和

R² 与 X 相连的键;



或化学键;

l, m, n 彼此独立地是 0 或 1;

L 是 (C₁-C₆)-烷基;

AA₁, AA₂ 彼此独立地是氨基酸基团或被氨基酸保护基单取代或多取代的氨基酸基团;

和它们的可药用盐。

术语“烷基”应理解为是指直链或支链烃链。

术语“氨基酸”或“氨基酸基团”是指例如下列化合物的立体异构形式, 即 D-或 L-型:

丙氨酸	甘氨酸	脯氨酸
半胱氨酸	组氨酸	谷酰胺
天门冬氨酸	异亮氨酸	精氨酸
谷氨酸	赖氨酸	丝氨酸
苯丙氨酸	亮氨酸	苏氨酸
色氨酸	甲硫氨酸	缬氨酸
酪氨酸	天门冬酰胺	

2-氨基己二酸	2-氨基异丁酸
3-氨基己二酸	3-氨基异丁酸
β-丙氨酸	2-氨基庚二酸
2-氨基丁酸	2,4-二氨基丁酸
4-氨基丁酸	锁链素
γ-氨基丁酸	2,2-二氨基庚二酸
6-氨基己酸	2,3-二氨基丙酸
2-氨基庚酸	N-乙基甘氨酸

2-(2-噻吩基)-甘氨酸

青霉胺

N-乙基天门冬酰胺

羟基赖氨酸

别羟基赖氨酸

3-羟基脯氨酸

4-羟基脯氨酸

异锁链素

别-异亮氨酸

3-(2-噻吩基)-丙氨酸

N-甲基甘氨酸

N-甲基异亮氨酸

6-N-甲基赖氨酸

N-甲基缬氨酸

正缬氨酸

正亮氨酸

鸟氨酸

11-氨基十一烷酸

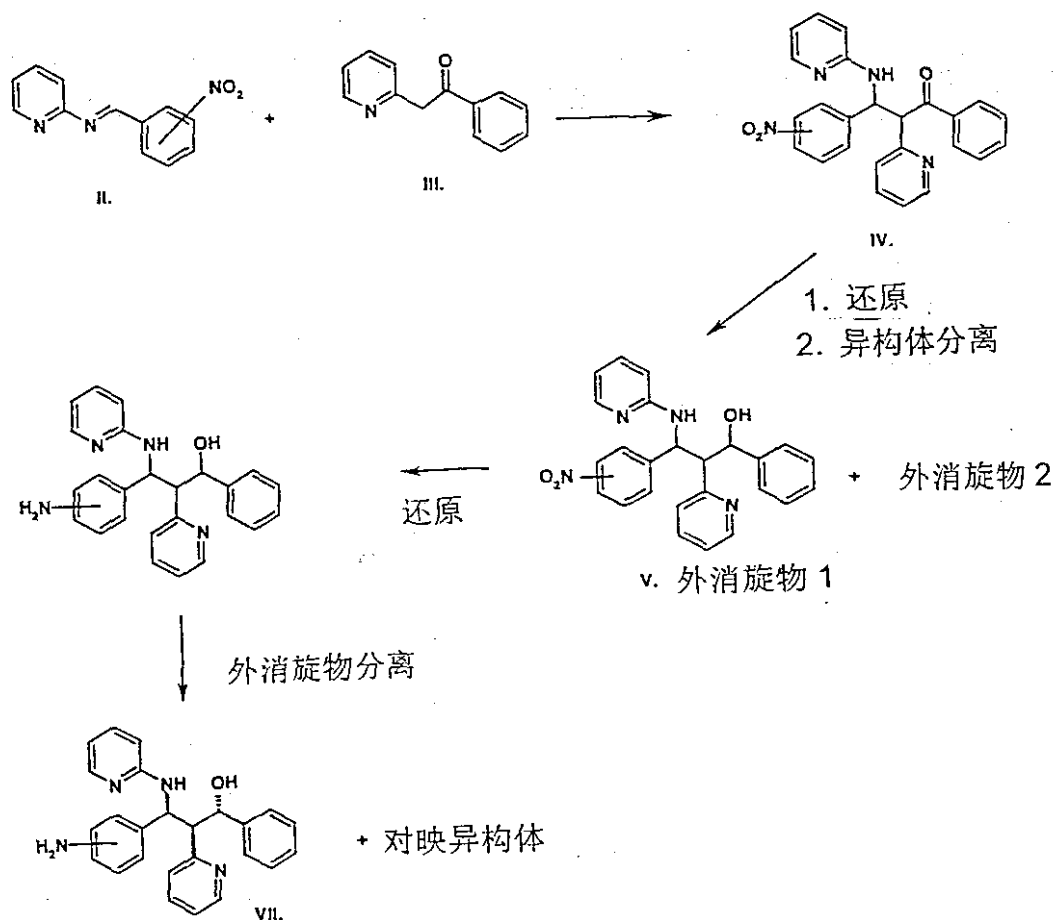
氨基酸是按照常规命名法缩写(参见 Schröder, Lübke, 《肽》第1卷, 纽约 1965, XXII-XXIII 页; Houben-Weyl, 《有机化学的方法》(Methoden der Organischen Chemie)第 XV/1 和 2 卷, Stuttgart 1974)。氨基酸 D-Asp 是指 D 型的天门冬氨酸。肽从其化学性质来说是酰胺类化合物并且在水解时可分解为氨基酸。

术语“氨基酸保护基”应理解是指可保护氨基酸侧链的官能团的适当基团(参见, 例如 T. W. Greene, P. G. M. Wuts, 《有机合成中的保护基》第 2 版, John Wiley & Sons, New York 1991)。

优选的氨基酸保护基是: 叔-丁氧基-羰基(BOC), 9-芴基甲氧基-羰基(Fmoc), 苄氧基-羰基(Z), 2-(3,5-二甲氧基苯基)丙-2-基氧基羰基(Ddz), 甲基, 叔丁基, 三苯甲基和 S-叔丁基, 叔丁基氨基-羰基。

本发明还涉及式 I 化合物的制备方法, 该方法按照下列反应式(反应式 1-4)进行:

方法 A
反应式 1

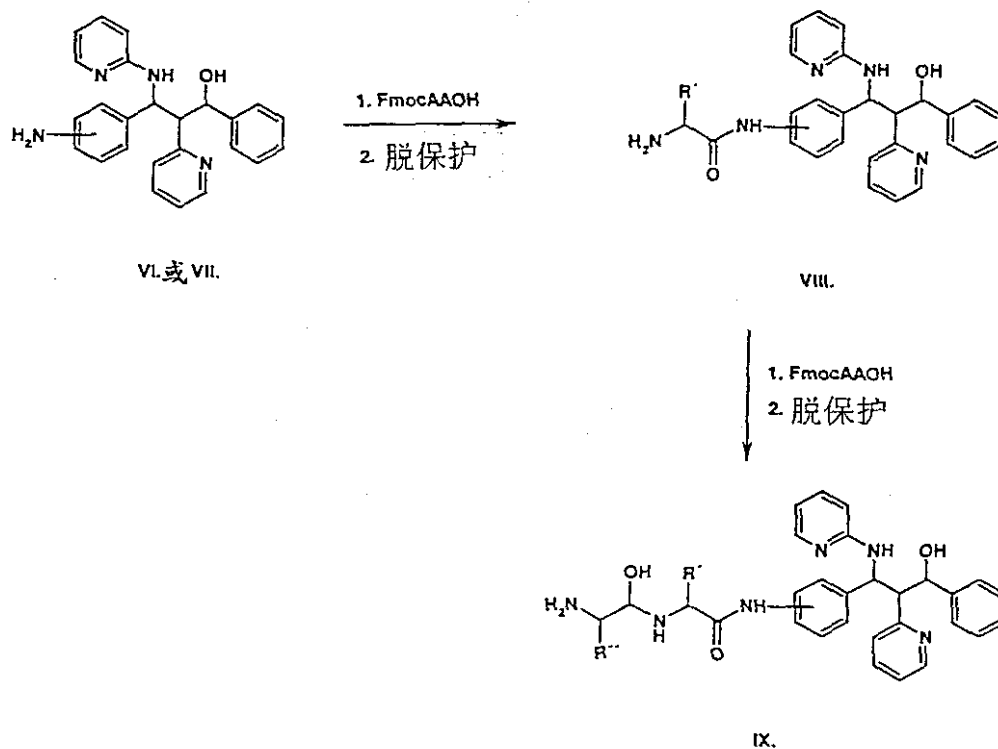


II 类的邻位-、间位-或对位-取代亚胺类化合物通过与酮 III 反应可制得 IV 类化合物。该反应可以通过例如将两种化合物以本体混合而不采用溶剂并且随后加热来进行，或者在适当溶剂如乙醇、四氢呋喃 (THF)、甲苯、二甘醇二甲醚或十四烷中于 20°C — 150°C 的温度下进行。

用 NaBH_4 或其它适当的还原剂在适宜的溶剂中于 -30°C 至 $+40^{\circ}\text{C}$ 的温度下还原 IV 类酮化合物，得到 V 类的羟基化合物，所述溶剂例如是甲醇、THF 或 THF/水。在该还原反应中获得的主产物通常是两种异构体的混合物 (外消旋体)。利用分级结晶法或硅胶色谱法可以分离不同消旋体使异构体彼此分开。利用已知方法可以还原 V 类化合物中的硝基，例如用 Pd 或炭载 Pd 以及 H_2 于甲醇中催化氢化。

由此获得的 VI 类外消旋化合物可以进一步分离为对映异构体。用手性色谱柱材料通过色谱法或通过文献所述已知方法利用旋光性辅助试剂(参见《有机化学杂志》第 44 卷, 1979, 4891)对 VI 进行外消旋拆分, 可得到 VII 类的对映异构体。

反应式 2



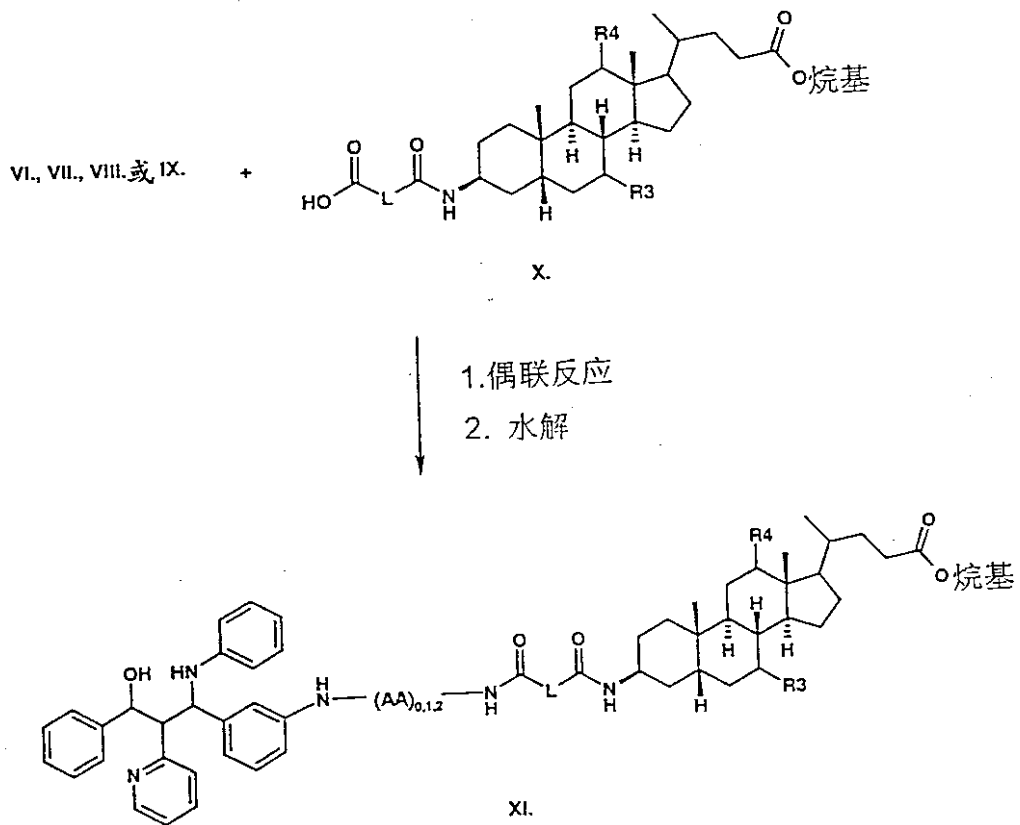
按照反应式 2, VI 或 VII 类的芳族胺(外消旋体或纯的对映异构体)可以与氨基酸通过已知标准肽偶联法反应, 得到衍生物 VIII。适用的方法例如是在 DMF 中用 TOTU 和三乙胺偶联。(对于文献可参见: G. Breipohl, W. König EP 0460446; W. König, G. Breipohl, P. Pokorny, M. Birkner, E. Giralt & D. Andreu(编著)《肽》1990, Escom, Leiden, 1991, 143-145)。基团 AA₁ 和 AA₂ 具有式 I 中给出的含义。氨基酸的氨基官能带有保护基如 Fmoc, 并且羧基未经保护。

所以在侧链中带有官能团的氨基酸中, 可以在合成过程中临时保护或保留在本发明的化合物中。

为了获得衍生物 VIII, 例如在 Fmoc 的情况下, 于 DMF 和吡啶的

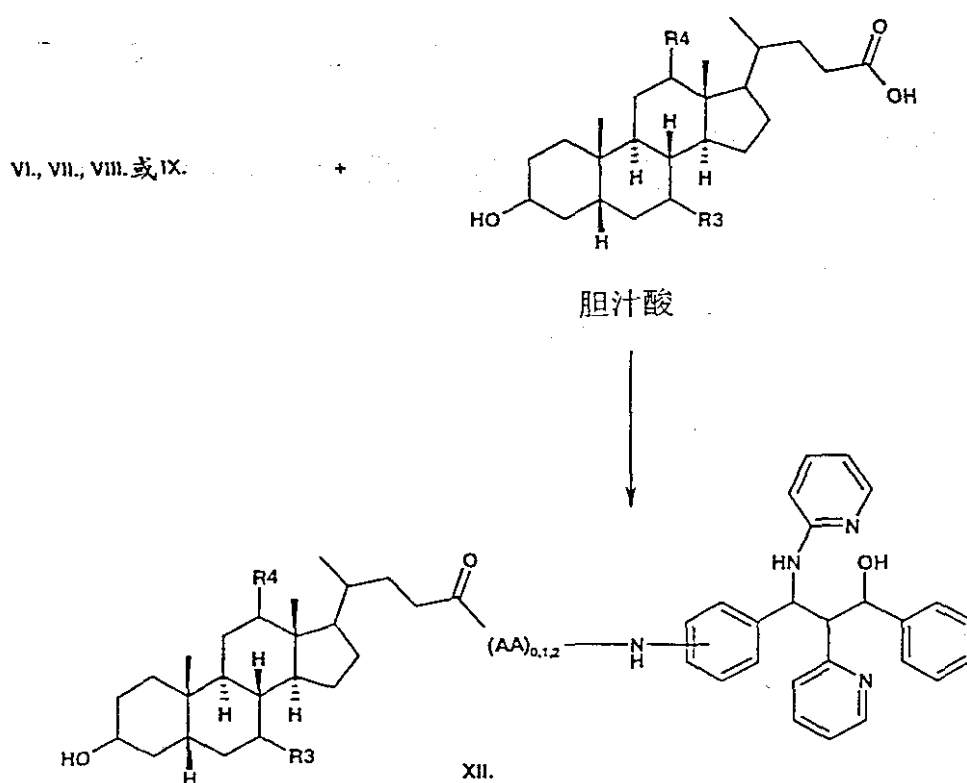
混合物中可脱去氨基官能团的保护基。如果由 VII 类的化合物起始, 可获得二肽结合物 IX。重复反应顺序 (a) 偶联氨基酸和 (b) 脱保护。

反应式 3



由 3-氨基-胆汁酸酯通过与烷基-或芳基二羧酸或其衍生物如琥珀酸酐相连利用已知方法 (例如 EP 0614908, EP 0489423) 可以制得 X 类的胆汁酸衍生物。通过标准肽偶联方法使化合物 (X) 与 VI、VII、VIII 或 IX 类的氨基化合物反应。偶联反应后, 通过水解胆汁酸部分的烷基酯官能团得到 XI 类的化合物。

反应式 4



VI、VII、VIII 或 XI 的氨基化合物可以与胆汁酸的羧酸官能团反应。此处可类似地采用已知的肽偶联方法，例如在 TOTU 和三乙胺的存在下或用二环己基碳二亚胺、羟基苯并三唑和三乙胺在 THF 中偶联。XII 类的化合物可以通过这种方法获得。

由于在水中具有高于起始或基础化合物的溶解度，可药用盐特别适合于医药用途。这些盐必须具有可药用阴离子或阳离子。适用于本发明化合物的可药用酸加成盐是：无机酸的盐，例如盐酸或氢溴酸，磷酸，偏磷酸，硝酸，磺酸和硫酸的盐；和有机酸的盐，如乙酸或苯磺酸，苯甲酸，柠檬酸，乙磺酸，富马酸，葡萄糖酸，乙醇酸，羟乙磺酸，乳酸，乳糖酸，马来酸，苹果酸、甲磺酸，琥珀酸，对-甲苯磺酸，酒石酸和三氟乙酸的盐。氯化物盐特别适用于医药用途。适用的可药用碱盐是铵盐、碱金属盐（例如钠盐和钾盐）和碱土金属盐（如镁盐和钙盐）。

带有阴离子的非药理学可接受的盐也包括在本发明的范围内，它们可作为制备或纯化可药用盐的有益中间产物和/或用于非治疗用途，例如

体外用途。

在此所用的术语“生理功能衍生物”是指任何本发明所述式 I 化合物的生理可接受衍生物，例如酯。它们在对哺乳动物如人体给药时能够（直接或间接地）生成式 I 的化合物或其活性代谢产物。

所述生理功能衍生物还包括本发明化合物的前药。此类前药可以体内代谢为本发明的化合物。这些前药本身可能有活性，或可能没有活性。

本发明的化合物也可以是不同的多晶型物形式，例如无定形和结晶多晶型形式。本发明化合物的所有多晶型物形式属于本发明的范围并且成为本发明的另一方面。

在下文中所有有关“式 (I) 的化合物”涉及上述的式 (I) 的化合物，和在本发明中描述的盐、溶剂化物和生理功能衍生物。

式 (I) 化合物获得预期生理作用所必需的量取决于多种因素，例如选定的具体化合物、用途、给药方式和患者的临床病症。通常，日剂量范围是 0.3mg 至 100mg（一般为 3mg 至 50mg）/天/kg 体重，例如 3—10mg/kg/天。静脉内的剂量可例如是 0.3mg—1.0mg/kg，其适合作为 10ng—100ng/kg/分钟的输注液给药。符合此目的的适当输注液含有例如 0.1ng—10mg，一般是 1ng—10mg/ml，单剂量可以含有例如 1mg—10g 的活性物质。所以，注射剂安瓿可以含有例如 1mg—100mg，并且单剂量的口服给药制剂（如片剂或胶囊）可以含有例如 1.0—1000mg，一般是 10—600mg。在可药用盐的情况中，上述重量数据与由盐衍生的苯并硫氮杂萘类离子的重量相关。为了预防或治疗上述病症，式 (I) 的化合物本身可以作为化合物使用，但优选它们与可接受赋形剂形成药物组合物的形式。显然，所述赋形剂是可接受的，也就是与组合物的其他组分相容并且对患者的健康无害。所述赋形剂可以是固体或液体或两者兼有，并且适宜与所述化合物配制为单剂量，例如片剂，其中可以含有 0.05% 至 95%（重量）的活性化合物。除了含有式 (I) 的化合物以外，还可以存在其他药物活性物质。可以通过已知制药方法来制备本发明的药物组合物，其主要包括将所述组分与可药用赋形剂和/或辅剂混合。

本发明的药物组合物是那些适合口服、直肠、局部、经口（例如舌

下)和非肠胃(例如皮下、肌肉内、真皮内或静脉内)给药的组合物,虽然在各种单独情况中的最适当给药方式取决于被治疗病症的性质和严重性以及所用的具体式(I)化合物。包衣制剂和包衣缓释制剂也属于本发明的范围内。优选耐受酸和胃液的制剂。耐胃液的适当包衣包括邻苯二甲酸乙酸纤维素、邻苯二甲酸聚乙酸乙烯基酯、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素和甲基丙烯酸与甲基丙烯酸甲酯的阴离子型聚合物。

适合口服给药的药用化合物可以是不连续单位的形式,例如胶囊、扁囊剂、含片(sucking tablet)或片剂,其中分别含有一定量的式(I)化合物;散剂或颗粒剂;存在于水或非水液体中的溶液或混悬液;或水包油或油包水乳液。上文已提到,利用任何适当制药方法可以配制出这些组合物,所述方法包括的步骤是,在该步骤中将活性化合物与赋形剂(可以含有一种或多种其它组分)接触。通常是通过将活性化合物与液体和/或微细固体赋形剂均匀且均质地混合来制备上述组合物,此后如果必要可以使产物成形。所以,例如将化合物的粉末或颗粒任选地与一种或多种其它组分通过压缩或成型来制得片剂。通过在适当设备中将自由流动形式的化合物(如粉末或颗粒)压片可以制得压缩片剂,化合物可以任选地与粘合剂、润滑剂、惰性稀释剂和/或一种(或多种)表面活性剂/分散剂混合。通过在适当设备中成形粉状化合物可制备成型片剂,所述粉状化合物已经用惰性液体稀释剂湿润。

适合经口腔(舌下)给药的药物组合物包括含片,其中含有式(I)化合物和矫味物质,通常是蔗糖,和阿拉伯胶或黄蓍胶;和锭剂,化合物含在惰性基质中,如明胶和甘油,或蔗糖和阿拉伯胶。

适合非肠胃给药的药物组合物优选包括式(I)化合物的灭菌含水制剂,该制剂优选与接受者的血液等渗。虽然作为注射液还可以经皮下、肌肉内或真皮内注射给药,但优选这些制剂经静脉内给药。例如,通过使所述化合物与水混合并且将所得溶液灭菌,令其与血液等渗可以制得上述制剂。本发明的可注射组合物一般含有0.1-5%(重量)的活性化合物。

适合直肠给药的药物组合物适宜是单剂量栓剂的形式。通过使式(I)

的化合物与一种或多种常规固体赋形剂如可可脂混合并且将该混合物加入模具中可以制得上述制剂。

适合局部涂敷在皮肤上的药物组合物优选是软膏、霜剂、洗剂、糊剂、喷雾剂、气溶胶或油。可使用的赋形剂是凡士林、羊毛脂、聚乙二醇、醇和两种或多种这些物质的联合形式。所含活性化合物的浓度一般是该组合物的 0.1—15% (重量), 例如 0.5—2% (重量)。

经皮给药也是可行的。适合经皮应用的药物组合物可以是单独贴剂的形式, 其适合于长时间接触在患者表皮上。此类贴剂适宜在任选缓冲的水溶液中含有活性物质, 溶解和/或分散在粘合促进剂中, 或分散在聚合物中。适当的活性化合物浓度是约 1%—35% (重量), 优选约 3%—15% (重量)。特别是, 可以通过电转运法和离子电渗法释放活性化合物, 如《药物研究》(Pharmaceutical Research), 2(6): 318 (1986) 所述。

本发明涉及式 I 化合物的外消旋体、消旋混合物和纯的对映异构体形式, 并且涉及它们的非对映异构体及其混合物。

式 I 的化合物及其可药用盐和生理功能衍生物的杰出特征在于对脂质代谢具有有益作用。所述化合物本身可以被应用, 或与其他降脂活性化合物联合使用。所述化合物适用于预防和特别是治疗脂质代谢紊乱, 尤其是高脂血症。式 I 的化合物也能够适当地影响血清胆固醇水平, 可用于预防和治疗动脉硬化症。

下列发现证实了本发明化合物的药理学活性。

对本发明化合物进行生物试验, 测定对兔回肠的刷状缘膜囊 (brush border membrane vesicles) 中 [³H]-牛磺胆酸盐摄取的抑制作用。

1. 由兔回肠制备刷状缘膜囊

利用所谓的 Mg²⁺ 沉淀法由小肠的肠细胞制备刷状缘膜囊。通过静脉内注射 0.5ml T61[®] 处死雄性新西兰兔 (体重 2—2.5kg), T61[®] 是 2.5mg 盐酸丁卡因、100m 乙甲丁酰胺和 25mg 碘环三甲铵的水溶液。取出小肠并且用冰冷却的生理盐水溶液漂洗。取小肠末端 7/10 处 (自口腔向直

肠方向测量, 即末端回肠, 其含有活化 Na^+ -依赖性胆酸转运系统) 用来制备刷状缘膜囊。将肠子置于塑料袋中在 -80°C 氮气下冷冻。为了制备膜囊, 在 30°C 的水浴中解冻冷冻的肠。将粘膜刮去并且悬浮于 60ml 冰冷的 12mM Tris/HCl 缓冲液 (pH 7.1)/300mM 甘露糖醇, 5 mM EGTA/10mg/L 苯甲基磺酰氟/1mg/l 的得自大豆的胰蛋白酶抑制剂 (32U/mg)/0.5mg/l 的得自牛肺的胰蛋白酶抑制剂 (193U/mg)/5mg/l 的杆菌肽。在用冰冷的蒸馏水稀释至 300ml 后, 用 Ultraturrax (18 杆, IKA Werk Staufen, 德国) 以最大值的 75% 将该混合物均化 3 分钟, 同时用冰冷却。在加入 3ml 的 1M MgCl_2 溶液 (终浓度为 10mM) 后, 令混合物在 0°C 下准确放置 1 分钟。通过加入 Mg^{2+} , 使细胞膜聚集, 并且除了刷状缘膜以外发生沉淀。在 $3000 \times g$ (5000rpm, SS-34 转鼓) 下离心 15 分钟后, 弃去沉淀, 含有刷状缘膜的上清液在 $48000 \times g$ (20000rpm, SS-34 转鼓) 下离心 30 分钟。弃去上清液, 并且用 Potter Elvehjem 均化器 (Braun, Melsungen, 900rpm, 10 冲程) 将沉淀在 60ml 的 12mM Tris/HCl 缓冲液 (pH 7.1) /60mM 甘露糖醇、5mM EGTA 中再次均化。加入 0.1ml 1M MgCl_2 溶液并且在 0°C 下保温 15 分钟, 将该混合物再在 $3000 \times g$ 下离心 15 分钟。随后上清液在 $48000 \times g$ (20000rpm, SS-34 转鼓) 下离心 30 分钟。将沉淀加入 30ml 的 10mM Tris/Hepes 缓冲液 (pH 7.4) /300mM 甘露糖醇中并且用 Potter Elvehjem 均化器在 1000rpm 下重新均匀悬浮。在 $48000 \times g$ (20000rpm, SS-34 转鼓) 下离心 30 分钟后, 将沉淀加入 0.5—2ml 的 Tris/Hepes 缓冲液 (pH 7.4) /280mM 甘露糖醇 (终浓度 20mg/ml) 中并且借助于结核菌素注射器用 27 规格针头重新悬浮。制得后或在液氮中在 -196°C 下以 4mg 份保藏后膜囊可直接用于转运研究。

2. 对回肠的刷状缘膜囊中 Na^+ 依赖性 [^3H]-牛磺胆酸盐摄取的抑制

利用所谓的膜过滤法测定上述刷状缘膜囊中底物的摄取。将 $10\mu\text{l}$ 的囊混悬液 ($100\mu\text{g}$ 蛋白) 吸量滴加在聚苯乙烯培养管 (11 x 70mm) 的侧壁上, 管中含有具有相应配体 ($90\mu\text{l}$) 的培养基。所述培养基含有 $0.75\mu\text{l} = 0.75\mu\text{Ci}$ [^3H (G)]-牛磺胆酸盐 (比放射性: $2.1\text{Ci}/\text{mmol}$) / $0.5\mu\text{l}$ 的

10mM 牛磺胆酸盐/8.75 μ l 的钠转运缓冲液 (10mM Tris/Hepes (pH 7.4)/100mM 甘露糖醇/100mM NaCl) (Na-T-B) 或 8.75 μ l 钾转运缓冲液 (10mM Tris/Hepes (pH 7.4)/100mM 甘露糖醇/100mM KCl) (K-T-B) 和 80 μ l 所述抑制剂溶液, 抑制剂溶解在 Na-T 缓冲液或 K-T 缓冲液中, 这取决于该试验。经聚偏二氟乙烯滤膜 (SYHV LO 4NS, 0.45 μ m, 4mm \varnothing , Millipore, Eschborn, 德国) 过滤该培养基。通过使该囊与培养基混合开始转运的测定。培养批次中的牛磺胆酸盐浓度为 50 μ M。经过预定培养时间 (通常为 1 分钟) 后, 加入 1ml 的冰冷终止液 (10mM Tris/Hepes (pH 7.4)/150 mM KCl) 来终止转运。生成的混合物立刻通过抽滤在 25—35mBar 的真空下用硝酸纤维素滤膜 (ME25, 0.45 μ m, 25mm 直径, Schleicher & Schuell, Dassell, 德国) 过滤。用 5ml 的冰冷终止液漂洗该滤膜。

为了测定放射性标记牛磺胆酸盐的摄取, 将滤膜溶解在 4ml 闪烁剂 Quickszint 361 (Zinsser Analytik GmbH, 法兰克福, 德国) 中, 并且利用液体闪烁计数测量法在 TriCarb 2500 测量仪 (Canberra Packard GmbH, 法兰克福, 德国) 中测定放射性。借助于标准样本, 在校准仪器和矫正任何存在的化学发光后得到测量值, 表示为 dpm (每分钟衰变数)。

在各种情况中测定 Na-T-B 和 K-T-B 中的空白对照值。摄取在 Na-T-B 和 K-T-B 中的差异给出 Na⁺依赖性转运量。基于空白对照计, 抑制 50% Na⁺依赖性转运量的抑制剂浓度为 IC₅₀ Na⁺。

药理学数据包括一系列试验, 其中研究了本发明的化合物与小肠末端的肠道胆汁酸转运系统的相互作用。结果概括在表 1 中。

表 1 表示对兔回肠刷状缘膜囊中 [³H]-牛磺胆酸盐摄取的抑制作用的测量值。给出了参比物牛磺鹅去氧胆酸 (TCDC) 和特定试验物质的 IC_{50Na} 的商数。

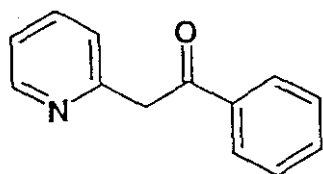
表 1:

实施例的化合物	$IC_{50Na} - TCDC [\mu mol]$ $IC_{50Na} - 试验物质 [\mu mol]$
1j	1.51
1k	1.59
2d	0.56
2e	1.96
4	0.50
7	0.15
8	0.91
9	2.02
10	1.63
11	1.96
12	2.58
13	0.56
14	1.52

下列实施例的作用是更详细地举例说明本发明, 本发明决不仅限于实施例的产物和实施方案。

实施例 1

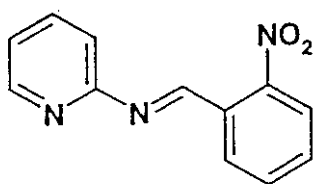
a.



-55°C下, 将 366ml 于正己烷中的 15% 浓度正丁基锂滴加到于 770ml 四氢呋喃中的 50g (0.54mol) 甲基吡啶内。所得混合物升至室温

并再次冷却至 -55°C 。缓慢滴加 77g 于 570ml 四氢呋喃中的 N_2N -甲基苯甲酰胺 (0.52mol) 并且将混合物再次升至室温, 继续搅拌 1 小时。加入 550ml 的 1N 盐酸后, 用乙酸乙酯提取该混合物 (3X) 并且用 MgSO_4 干燥有机相, 蒸发。蒸馏残余物得到 47.5g (47%) 产物。沸点: $134-136^{\circ}\text{C}/0.28\text{ mbar}$ 。

b.



利用水分离器, 将 20.0g (0.13mol) 的 σ -硝基苯甲醛、12.5g (0.13mol) 的 2-氨基吡啶和 0.3g 对-甲苯磺酸在 150ml 甲苯中加热回流 2.5 小时。冷却该溶液并且抽滤形成的沉淀, 干燥。

收率: 18.1g (60%) 产物

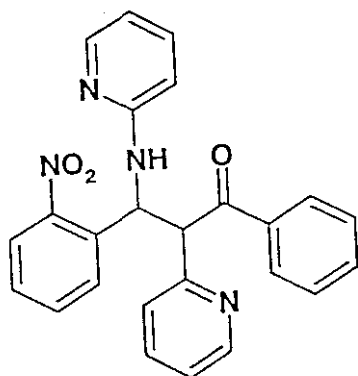
熔点: $93-95^{\circ}\text{C}$

$\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ (227)

MS (FAB) 228

$\text{M} + \text{H}^+$

c.



在蒸汽浴上将 12.0g (61mmol) 实施例 1 a 的酮和 15.0g (66mmol) 实施例 1 b 的亚胺加热 45 分钟。将反应混合物溶于乙醇, 同时加热。冷却后, 抽滤沉淀并且用乙醇重结晶。

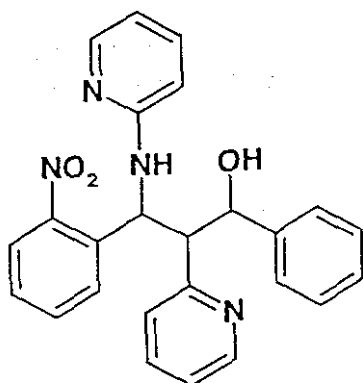
收率: 11.8g (46%) 产物

$C_{25}H_{20}N_4O_3$ (424.2)

MS (FAB) 425

$M + H^+$

d.



将 8.0g (18.8mmol) 实施例 1 c 的酮化合物溶于 300ml 四氢呋喃/水 10:1 中, 加入 4.67g 硼氢化钠并且室温下将该混合物搅拌 2 小时。随后蒸发该溶液, 向残余物中加入 100ml 的 2N 盐酸, 在蒸汽浴上加热该混合物直至完全溶解。冷却后, 用 4N NaOH 溶液使该溶液呈碱性并且用乙酸乙酯提取 (2X)。用 $MgSO_4$ 干燥有机相并且蒸发。残余物用硅胶层析 (庚烷/乙酸乙酯 1:1)。得到两种消旋化合物产物。

第一级份: 3.9g (48%) 非极性消旋体 (实施例 1 d/1)

$C_{25}H_{22}N_4O_3$ (426.2)

MS (FAB) 427

$M + H^+$

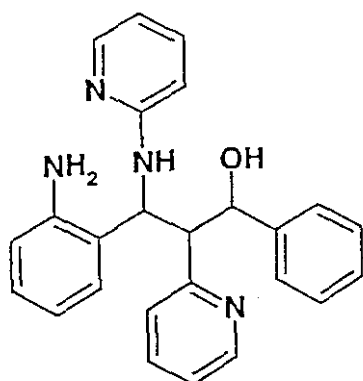
第二级份: 2.5g (31%) 极性消旋体 (实施例 1 d/2)

$C_{25}H_{22}N_4O_3$ (426.2)

MS (FAB) 427

$M + H^+$

e.



将得自实施例 1 d/1 的 2.5g (5.86mmol) 非极性消旋体溶解在 300ml 甲醇中, 加入约 20mg 的 Pd/C 10% 并且在 H₂ 气氛中于室温下进行氢化。滤除催化剂并且蒸发该溶液。残余物经硅胶层析(正庚烷/乙酸乙酯 7: 13)。

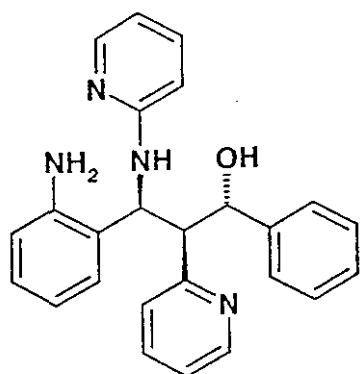
收率: 1.9g (82%) 产物

C₂₅H₂₄N₄O (396.22)

MS (FAB) 397

M + H⁺

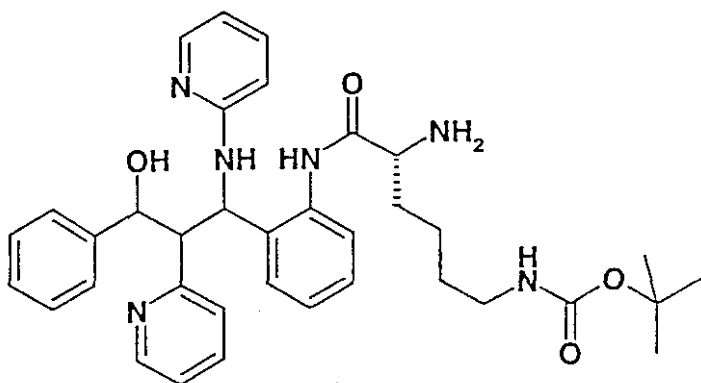
f.



(+)-对映异构体
(实施例 1f/2)

利用制备 HPLC 将 100mg 的实施例 1 e 的外消旋化合物拆分为对映异构体。拆分在 CSO-Chiralpak 柱(Daicel, Düsseldorf)上用正己烷/乙醇 4: 1 进行。得到 40mg 的(-)-对映异构体(实施例 1 f/1)作为第一级份, 并且得到 40mg 的(+)-对映异构体(实施例 1 f/2)作为第二级份。

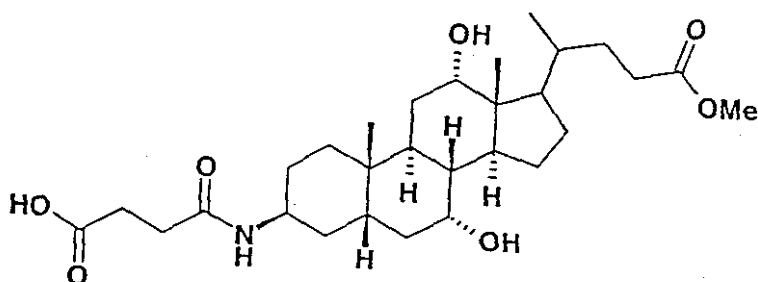
g.



将 4.0g (10.1mmol) 实施例 1e 的氨基化合物 (非极性外消旋体)、4.85g (10.3mmol) 的 N-Fmoc-D-Lys(BOC)OH、4.0g (12.2mmol) 的 TOTU 和 2.7ml 的三乙胺溶于 300ml 二甲基甲酰胺中, 并且在室温下将该溶液搅拌 2 小时。将该反应混合物倾入水中并且用乙酸乙酯提取 (2X)。干燥有机相 (MgSO₄) 并且蒸发。将残余物溶于 150ml 二甲基甲酰胺/哌啶 2: 1 中以脱除 Fmoc 基, 室温下将该溶液搅拌 1 小时。将其倾入水中并且用乙酸乙酯提取 (3X)。干燥有机相 (MgSO₄) 并且蒸发。用硅胶层析 (二氯甲烷/甲醇 9: 1) 得到 4.0g (63.5%) 的产物。

C₃₆H₄₄N₆O₄ (624.3) MS (FAB) 625 M + H⁺

h.

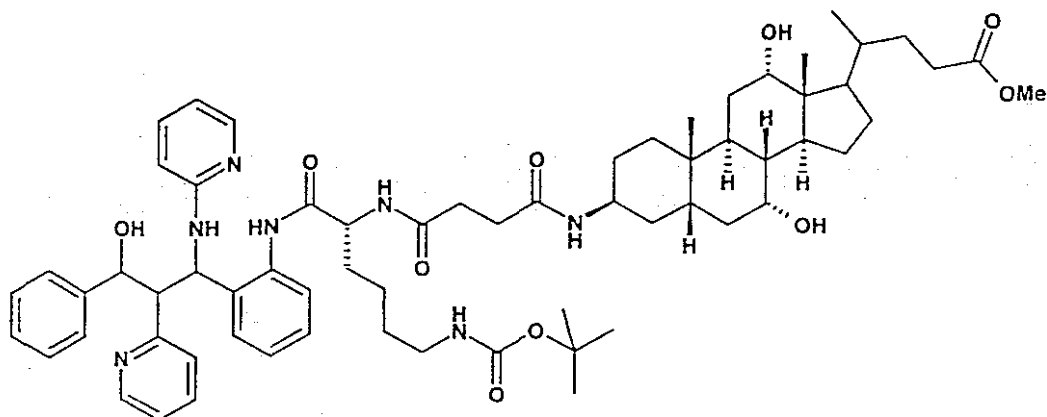


将 5.0g (11.86mmol) 的 3β-氨基胆汁酸甲酯 (欧洲专利申请 EP 0614908)、1.3g (13mmol) 琥珀酸酐和 16.5ml 三乙胺溶于 75ml 四氢呋喃中并且将该溶液在室温下搅拌 1 小时。蒸发该溶液。将残余物溶于水中并且用盐酸酸化该溶液, 用乙酸乙酯提取 (3X)。干燥有机相 (MgSO₄) 并且蒸发。

收率: 5.8g (94%) 产物

C₂₉H₄₇N₇O₇ (521.3) MS (FAB) 528 M + LI⁺

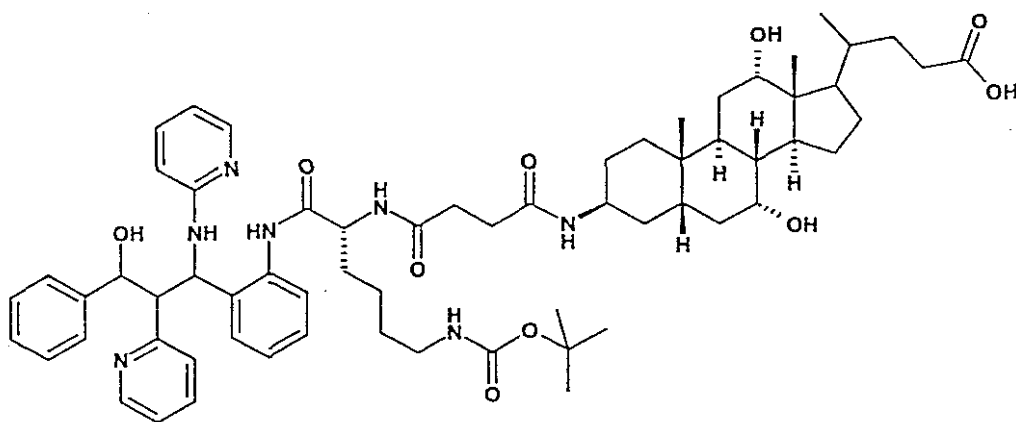
i.



将 4.0g (6.4mmol) 实施例 1 g 的化合物、3.45g (6.6mmol) 的实施例 1 h 的胆酸衍生物、1.2ml 的三乙胺、2.16g (16mmol) 羟基苯并三唑和 2.56g 的二环己基碳二亚胺 (12.4mmol) 溶于 250ml 的四氢呋喃中并且在室温下将该溶液搅拌 5 小时。蒸发该混合物，将残余物溶解在乙酸乙酯中并且用 NaHCO₃ 溶液洗涤该溶液。干燥有机相 (MgSO₄) 并且蒸发。在硅胶上层析 (二氯甲烷/甲醇 19: 1, 随后 9: 1) 得到 3.1g (43%) 产物。

C₆₅H₈₉N₇O₁₀ (1127.7) MS (FAB) 1134.7 M + Li⁺

j.



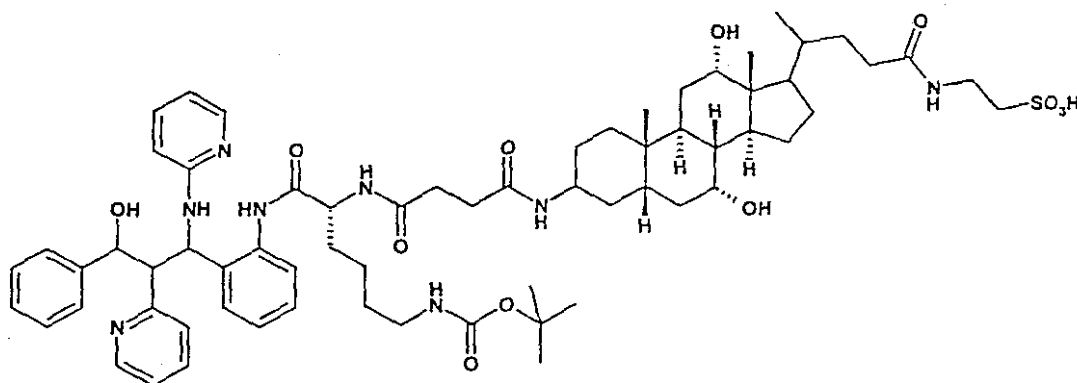
将 3.1g (2.75mmol) 的实施例 1 i 的甲酯溶于 200ml 的乙醇中，加入 31ml 的 1N NaOH 溶液并且将该混合物在室温下搅拌 5 小时。蒸发该

混合物，将残余物溶于水中，加入饱和 NaH_2PO_4 溶液。用乙酸乙酯提取该混合物 (2X) 并且干燥有机相 (MgSO_4) 和蒸发。将粗产物在硅胶上层析 (二氯甲烷/甲醇 4: 1)。

收率: 2.25g (73%) 产物

$\text{C}_{64}\text{H}_{87}\text{N}_7\text{O}_{10}$ (1113.7) MS (FAB) 1120.7 $\text{M} + \text{Li}^+$

k.

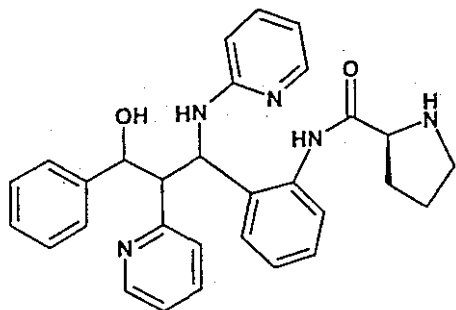


0°C 下，将 0.48ml 的氯甲酸乙酯加入 1.5g (1.35mmol) 实施例 1j 的化合物和 0.81ml 的三乙胺中并且将该混合物搅拌 10 分钟。此后，加入溶于 30ml 0.1N NaOH 溶液中的 0.6g 牛磺酸并且室温下将该混合物搅拌 24 小时。蒸发该混合物，将残余物溶于少量水中，将该溶液倾入饱和 NaH_2PO_4 溶液中。用乙酸乙酯提取该混合物 (3X) 并且干燥有机相 (MgSO_4) 和蒸发。在硅胶上层析 (二氯甲烷/甲醇 4: 1, 随后甲醇)，得到 0.98g (60%) 牛磺酸偶联物。

$\text{C}_{66}\text{H}_{92}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{S}$ (1270.7) MS (FAB) 1243.6 $\text{M} + \text{Na}^+$

实施例 2

a.



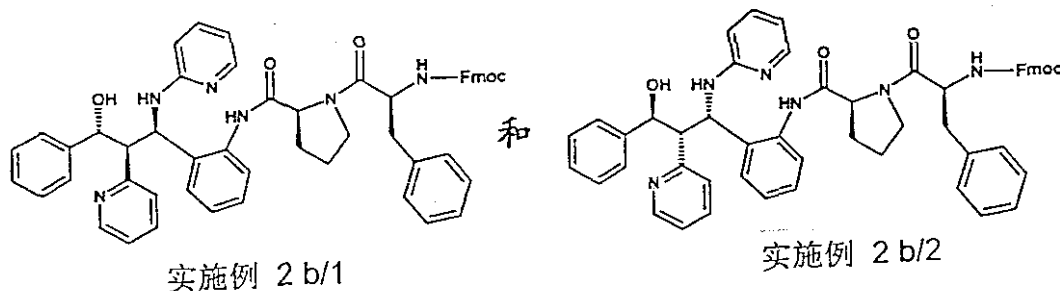
将 2.5g (6.31mmol) 实施例 1 e 的氨基化合物 (非极性外消旋体)、2.2g (6.52mmol) 的 Fmoc-L-脯氨酸、2.5g (7.62mmol) 的 TOTU 和 1.7ml 的三乙胺溶于 100ml 二甲基甲酰胺中, 并且在室温下将该溶液搅拌 3 小时。使该反应混合物蒸发至一半, 加入水并且用乙酸乙酯提取 (3X)。用 $MgSO_4$ 干燥有机相并且蒸发。用硅胶层析 (乙酸乙酯/庚烷 7:3) 后得到 3.85g (85%) 的产物。

将这种 Fmoc 保护的中间产物 (3.6g) 溶解在 110ml 吡啶/DMF 1:10 中, 室温下将该溶液搅拌 1 小时。蒸发该混合物, 残余物用硅胶层析 (二氯甲烷/甲醇 19:1, 随后 9:1)

收率: 1.8g (72.5%)

$C_{30}H_{31}N_5O_2$ (493.2) MS (FAB) 494 $M + H^+$

b.



室温下将 1.7g (3.44mmol) 实施例 2 a 的化合物与 1.4g (3.61mmol) 的 Fmoc-L-苯丙氨酸、1.9g (5.80mmol) 的 TOTU 和 1.0ml 三乙胺在

150ml DMF 中一起搅拌 4 小时。蒸发该反应混合物并且残余物用硅胶层析(乙酸乙酯/正庚烷 4: 1)。得到两种级份:

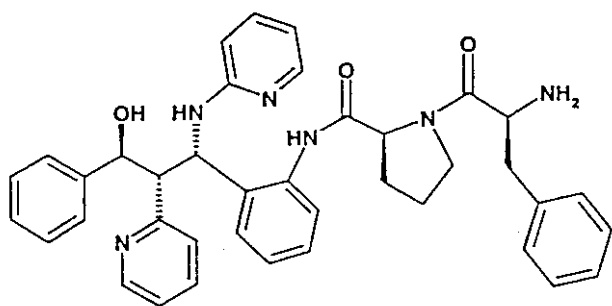
第一级份: 1.28g (43%) 非极性非对映异构体 (实施例 2 b/1)

$C_{54}H_{50}N_6O_5$ (862.4) MS (FAB) 863.4 $M + H^+$

第二级份: 0.82g (28%) 极性非对映异构体 (实施例 2 b/1)

$C_{54}H_{50}N_6O_5$ (862.4) MS (FAB) 863.4 $M + H^+$

c.

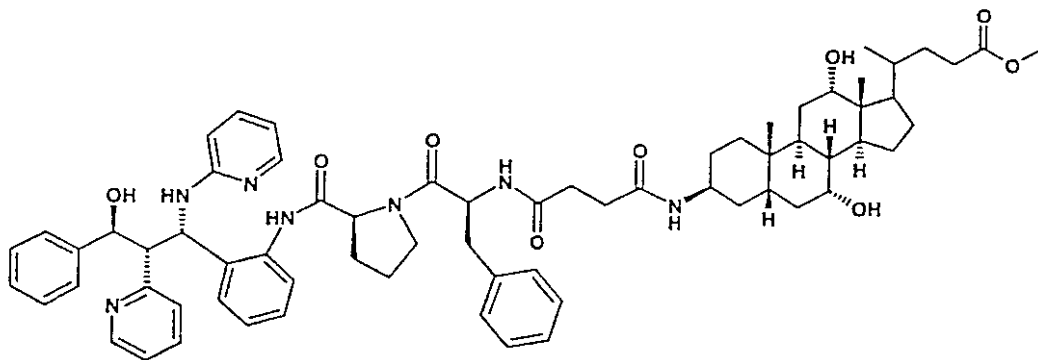


将 0.8g (0.93mmol) 实施例 2 b/2 的化合物溶于 33ml DMF/哌啶 10: 1 中并且室温下将该混合物搅拌 1 小时。蒸发后, 残余物用硅胶层析(二氯甲烷/甲醇 19: 1, 随后 9: 1)。

收率: 0.35g (59%)

$C_{39}H_{40}N_6O_3$ (640.3) MS (FAB) 641.3 $M + H^+$

d.



通过实施例 1 i 所述方法, 使 0.5g (0.78mmol) 实施例 2 c 的化

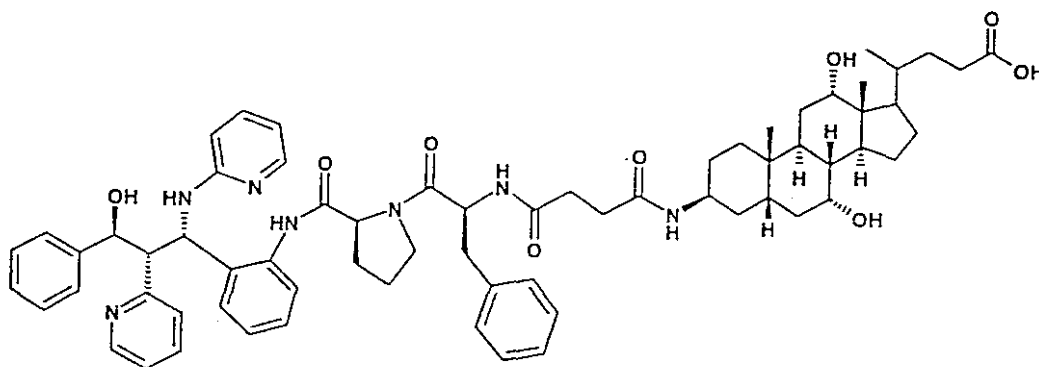
合物和 0.45g (0.86mmol) 实施例 1 h 的胆汁酸衍生物反应, 得到 0.38g (43%) 产物。

$C_{68}H_{85}N_7O_9$ (1143.6)

MS (FAB) 1144.6

$M + H^+$

e.



将 0.31g (0.27mmol) 实施例 1 d 的甲酯溶于 30ml 乙醇中, 加入 3.0ml 的 1N NaOH 溶液并且室温下将该混合物搅拌 12 小时。蒸发该反应混合物, 残余物用硅胶层析(二氯甲烷/甲醇 4: 1)。

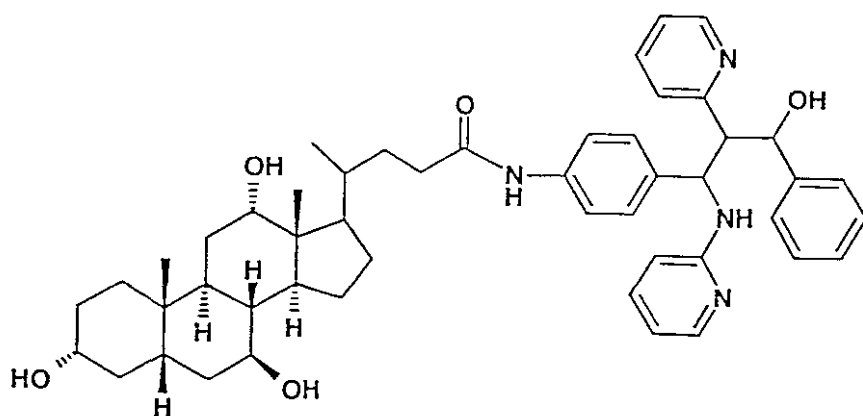
收率: 220mg (72%)

$C_{67}H_{83}N_7O_9$ (1129.6)

MS (FAB) 1130.6

$M + H^+$

实施例 3



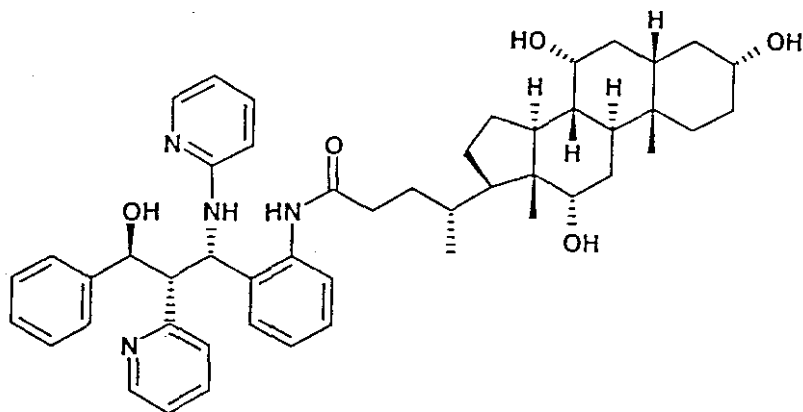
室温下, 将 0.3g (0.78mmol) 的 3-(4-氨基苯基)-1-苯基-2-吡啶-2-基-3-(吡啶-2-基氨基)-丙-1-醇(按照类似于实施例 1 e 的方法制

备)、0.34g(0.83mmol) 乌索胆酸(ursocholic acid)、0.34g(2.52mmol) 羟基苯并三唑、0.41g(2mmol) 二环己基碳二亚胺和0.15ml 三乙胺在50ml 四氢呋喃中搅拌2天。当反应结束时, 过滤出固体。蒸发该溶液, 残余物用硅胶层析(二氯甲烷/甲醇 9: 1, 随后 17: 3)。得到0.33g(55%) 产物。

$C_{49}H_{62}N_4O_5$ (786.5) MS (FAB) 787.5 $M + H^+$

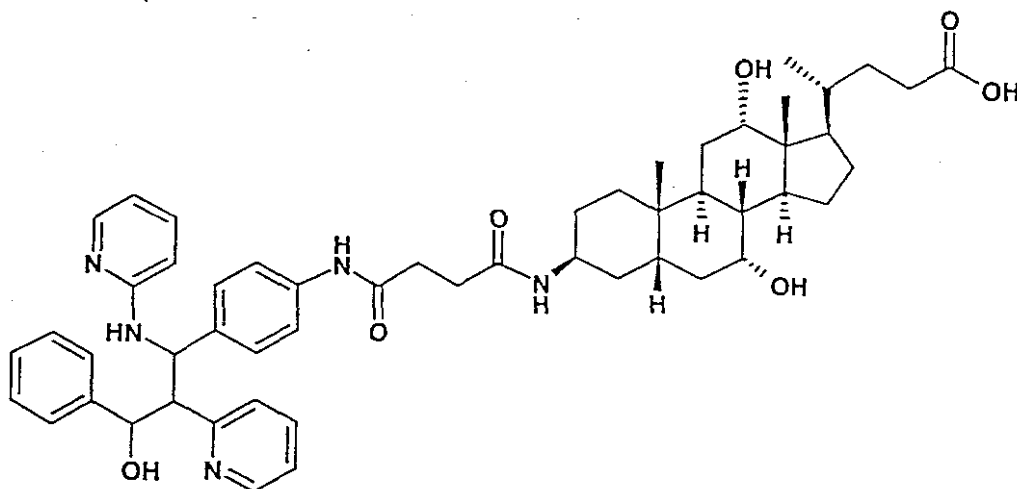
实施例 4-14 类似于实施例 1-3 由相应起始化合物制得。

实施例 4



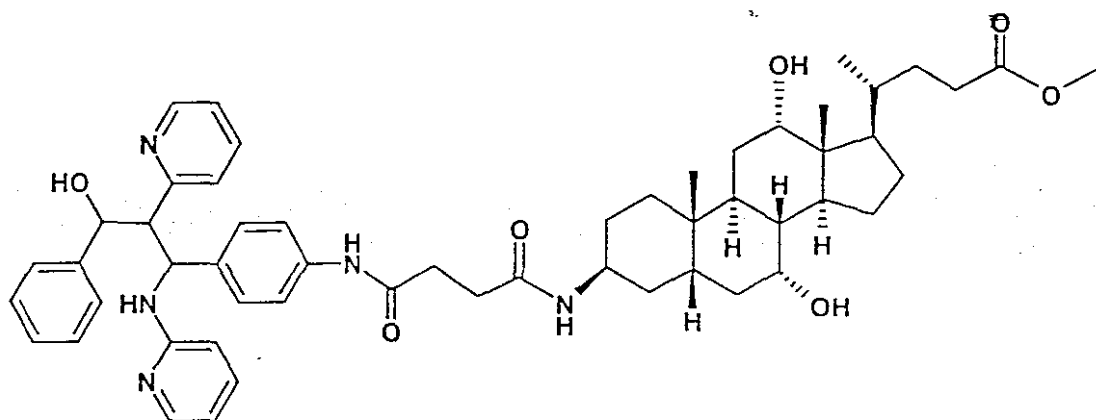
$C_{49}H_{62}N_4O_5$ (787.1) MS (FAB) 788.1 $M + H^+$

实施例 5 (非极性非对映异构体)



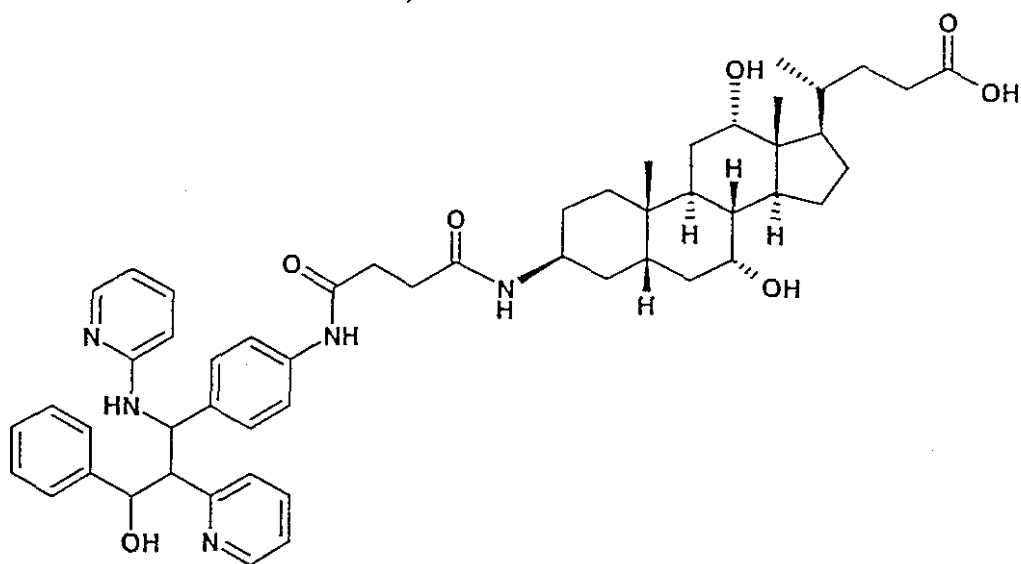
$C_{53}H_{67}N_5O_7$ (886.2) MS (FAB) 887.2 $M + H^+$

实施例 6



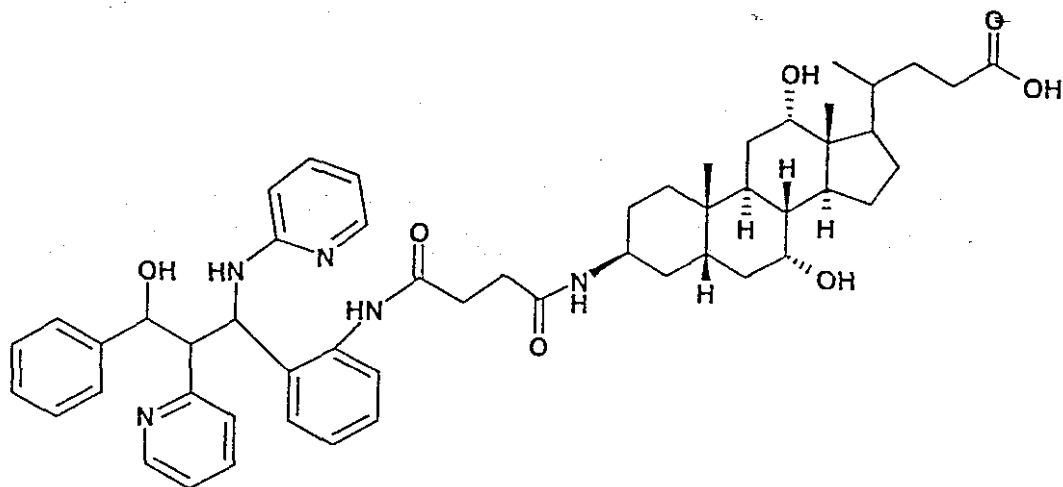
$C_{54}H_{69}N_5O_7$ (900.2) MS (FAB) 901.2 $M+H^+$

实施例 7 (极性非对映异构体)



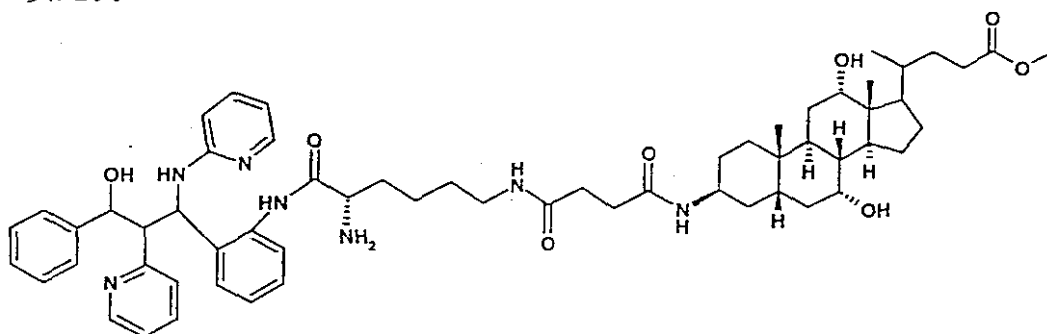
$C_{53}H_{67}N_5O_7$ (886.2) MS (FAB) 887.2 $M+H^+$

实施例 8



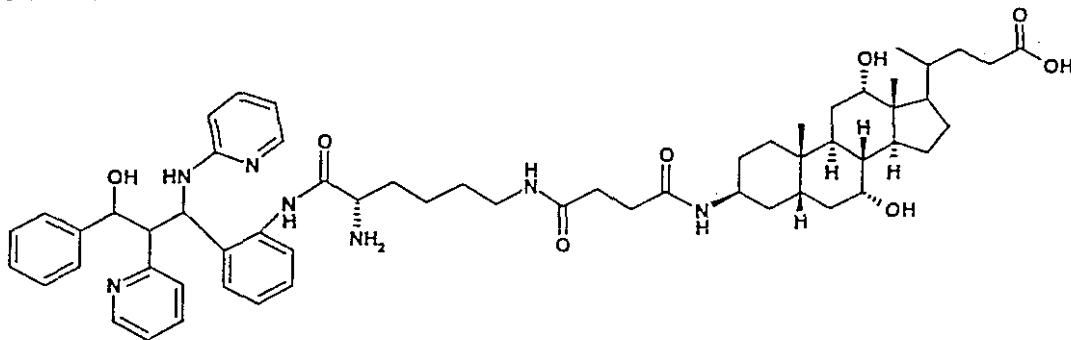
$C_{53}H_{67}N_5O_7$ (886.2) MS (FAB) 887.2 $M+H^+$

实施例 9



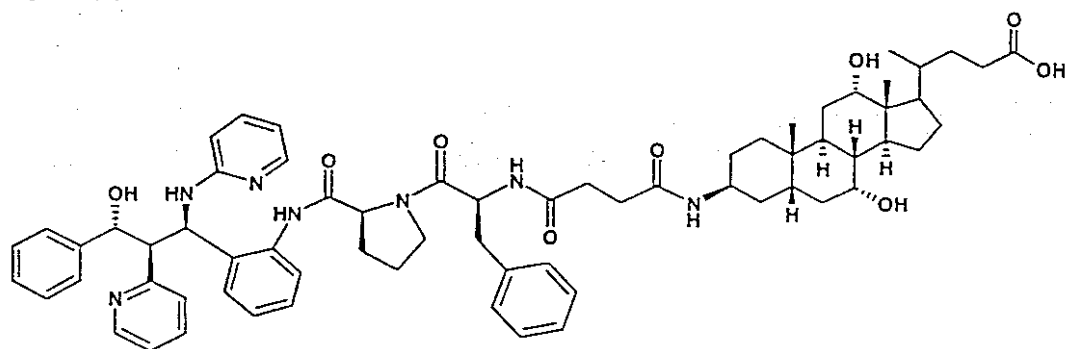
$C_{60}H_{81}N_7O_8$ (1028.4) MS (FAB) 1029.4 $M+H^+$

实施例 10



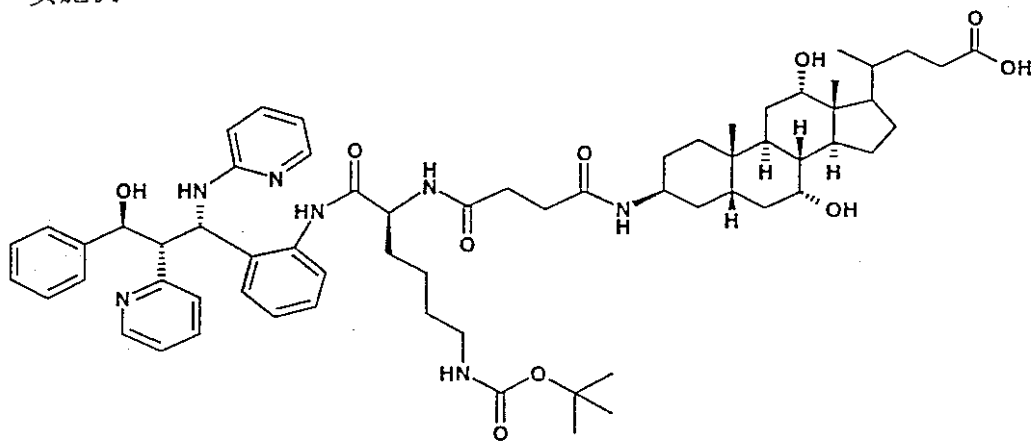
$C_{59}H_{79}N_7O_8$ (1014.3) MS (FAB) 1015.3 $M+H^+$

实施例 11



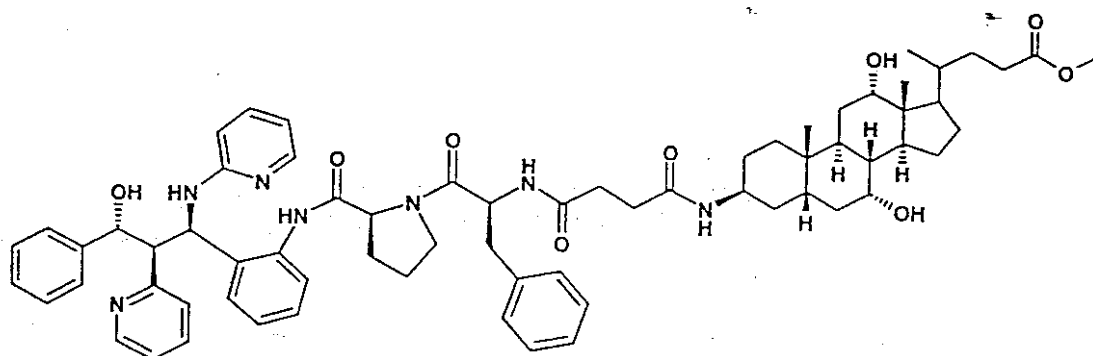
$C_{67}H_{83}N_7O_9$ (1130.5) MS (FAB) 1031.5 $M+H^+$

实施例 12



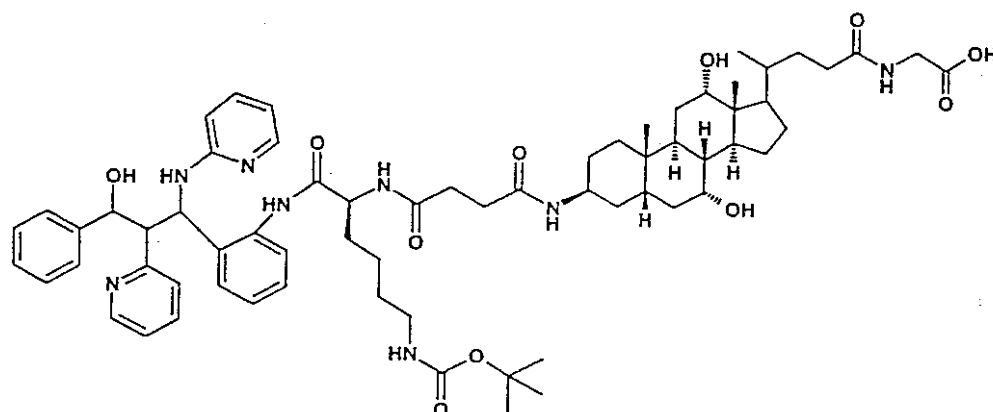
$C_{64}H_{87}N_7O_{10}$ (1114.4) MS (FAB) 1115.4 $M+H^+$

实施例13



$C_{68}H_{85}N_7O_9$ (1144.5) MS (FAB) 1145.5 $M+H^+$

实施例14



$C_{66}H_{90}N_8O_{11}$ (1171.5) MS (FAB) 1172.5 $M+H^+$