



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU
UTLÄGGNINGSSKRIFT** 65624

C (45) Patentti- ja rekisterihallitus 11 06 1984
Patent meddelat

(51) Kv.kk./Int.Cl.³ C 07 F 9/09

SUOMI—FINLAND

(FI)

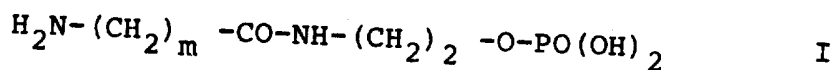
Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus — Patentansöknin	771425
(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag	05.05.77
(23) Alkuperä — Giltighetsdag	05.05.77
(41) Tulut julkiseksi — Blivit offentlig	07.11.77
(44) Nähtävöksiäminen ja kuuljulkaisu pvm. — Ansökan utlagd och utskriften publicerad	29.02.84
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet	06.05.76

Unkari-Ungern(HU) CI-1662

- (71) Chinoin Gyógyszer és Vegyészeti Termékek Gyára Rt., Tó u. 1-5,
Budapest IV, Unkari-Ungern(HU)
- (72) László Feuer, Budapest, Árpád Furka, Budapest,
Ferenc Sebestyén, Budapest, Anikó Horváth, Budapest,
Jolán Hercsel née Szepespataky, Budapest, Unkari-Ungern(HU)
- (74) Oy Kolster Ab
- (54) Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökel-poisten asyloitujen
etanoliamiinifosfaattien valmistamiseksi - Förfarande för fram-
ställning av nya terapeutiskt användbara acylerade etanolamin-
fosfat

Keksinnön kohteena on menetelmä uusien terapeuttisesti käyt-
tökel-poisten asyloitujen etanoliamiinifosfaattien valmistamiseksi,
joiden kaava on

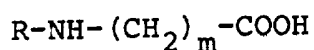


jossa m on 2 tai 3, ja niiden suolojen valmistamiseksi.

Keksinnön mukaisesti valmistetuista yhdisteistä varsinkin
γ-aminobutyrylietanoliamiinifosfaatti on farmakologisesti merkit-
tävä. Kaavan I mukaiset yhdisteet alentavat rotilla jo erittäin pie-
ninä annoksina verensokerin tasoa, nostavat A-vitamiinitasoa see-
rumissa ja suurentavat lisättyjen ja merkittyjen sulfaatti-ionien

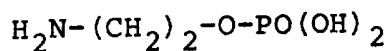
määrää kananalkioiden keuhkokudoksissa.

Yleisen kaavan I mukaisia yhdisteitä ja niiden suoloja valmistetaan keksinnön mukaan siten, että yleisen kaavan II



II

mukaisen hapon reaktiivinen esterijohdannainen, edullisesti fenyyliesteri, jossa kaavassa R on vety tai aralkoksikarbonyyliryhmä, edullisesti karbobentsoksiryhmä, ja m merkitsee samaa kuin edellä, saatetaan reagoimaan kaavan III



III

mukaisen yhdisteen kanssa, ja saadusta yhdisteestä poistetaan mahdollinen suojaryhmä R hydrolyysillä tai katalyyttisesti hydraamalla, ja kaavan I mukainen yhdiste, muutetaan haluttaessa farmakologisesti hyväksyttäväksi suolaksi.

Yleisen kaavan I mukaisten yhdisteiden farmakologisen vaikutuksen osoittamiseksi tehtiin seuraavat kokeet.

γ-aminobutyryylietanoliiniinifosfaatin vaikutus verensokerin tasoon

Vertailu	106 mg%
γ-aminobutyryylietanoliiniinifosfaatti	95 mg%

Merkittävyys oli molemmissa tapauksissa $P < 0,05$. Kokeessa käytettiin ryhmää kohti 20 rottaa, joita ei ruokittu 18 tuntiin ennen koetta. Annos oli 1 µg/kg kohti ruumiinpainoa ja annostus suoritettiin 4 päivän aikana liuoksena perorallisesti.

γ -aminobutyryylietanoliamiinifosfaatin A-vitamiinitasoa korottava vaikutus

Annos	0	5	1	0,3	0,1	0,05	0,01	0,005
($\mu\text{g/kg}$)								
Vaikutus ⁺	9,0	11,5	12,5	13,5	16,6	15,2	14,8	14,8
($\mu\text{g\%}$)								

⁺)

merkittävyys: $P < 0,01$

Kokeessa käytettiin ryhmää kohti 20 urospuolista Wistar-rottaa, joiden paino oli 200 g. Havaintoaika oli 6 vuorokautta.

γ -aminobutyryylietanoliamiinifosfaatin vaikutus veren piipitoisuuteen

Pii (mg/g verta)

	0 h	5 päivä	7 päivä	13 päivää	20 päivää	40 päivää
Vertailu	0,100	0,098	0,120	0,122	0,130	0,153
Ryhmä I	$\pm 0,005$	$\pm 0,011$	$\pm 0,017$	$\pm 0,016$	$\pm 0,011$	$\pm 0,016$
5 $\mu\text{g/päivä}$	0,090	0,156	0,154	0,184	0,305	0,336
	$\pm 0,105$	$\pm 0,010$	$\pm 0,006$	$\pm 0,005^x$	$\pm 0,010^{xx}$	$\pm 0,011^{xx}$
Ryhmä II	0,105	0,174	0,170	0,200	0,368	0,359
10 $\mu\text{g/päivä}$	$\pm 0,005$	$\pm 0,004$	$\pm 0,004$	$\pm 0,011^x$	$\pm 0,115^{xx}$	$\pm 0,013^{xx}$

+ merkittävyys $P < 0,01$

++ merkittävyys $P < 0,001$

Tulosten merkittävyys on 13. päivästä alkaen $P < 0,01$ ja 20. päivästä alkaen $P < 0,001$. Kokeet suoritettiin 2,5-3 kilogramman painoisilla kaniineilla. Vaikutusainetta annosteltiin oraalisesti taulukossa esitettyinä määrinä. Pii määritettiin Gaubatz'in menetelmän avulla (Klin. Wochenschrift 14, 1753 (1935)). Verinäytteet otettiin tätä varten eläinten korvaverisuonista.

β -aminobutyryylietanolihamiini-fosfaatin ja A-vitamiini yhteis-
vaikutus implantoidun vanun granulooman aiheuttavaan vaikutukseen

Annos

	Vitamiini A (paikallinen)	Vaikutusaine (paikallinen)		Kuivatun granulooman (oraalinen) paino, mg
	mg	μ g		μ g/päivä
I. Vertailu	-	-	-	50 $\pm$ 1,3
II. Vertailu + liuotin	-	-	-	51 $\pm$ 3,0
III. Käsitelty	2	-	-	62 $\pm$ 22,1
IV. Käsitelty	2	0,1	-	63 $\pm$ 2,2
V. Käsitelty	-	-	0,1	75 $\pm$ 2,4
VI. Käsitelty	2	-	0,1	92 $\pm$ 4,0

Käytetyn A-vitamiini toimitti Hoffman la Roche. Erot ovat merkittäviä seuraavalla tavalla: ryhmien II. ja III. välillä $P < 0,05$, ryhmien II. ja V. välillä $P < 0,001$, ryhmien V. ja VI. välillä $P < 0,01$.

Granulooman muodostuminen tutkittiin urospuolisilla Sprague-Dawley-rotilla Lee'n ym. menetelmän mukaan (Pharm. Sci. 62, 895/L973). Selkään ja kylkiin ihon alle implantoidut tamponit poistettiin 10 päivän kuluttua ja kuivattiin 65°C :ssa, kunnes paino pysyi vakiona.

Keksintöä esitetään seuraavassa tarkemmin esimerkkien avulla rajoittumatta kuitenkaan näihin esimerkkeihin.

Esimerkki 1

3,94 g (11 mmoolia) N-karbobentsoksi- β -aminovoihappo-p-nit-rofenyyliesteriä liuotetaan 60 millilitraan absoluuttista pyridiiniä. Liuos jäähdytetään 0°C :een. Ilman jatkojäähdyttämistä lisätään tiipoittain 1,41 g (10 mmoolia) etanolihamiini-fosfaattia liuotettuna 20 millilitraan vettä. Lopuksi lisätään liuokseen 2,8 millilitraa

(20 mmoolia) trietyyliamiinia. Reaktioseoksen annetaan seistä huoneenlämpötilassa 72 tuntia ja se haihdutetaan sitten kuiviin 35°C:ssa tyhjiössä. Jäljelle jäänyt öljymäinen tuote laimennetaan 10 millilitralla vettä ja tehdään happameksi väkevöidyllä suolahapolla. Seosta uutetaan jatkuvasti 8 tuntia eetterillä. Vesifaasi haihdutetaan kuiviin tyhjiössä. Jäljelle jäänyt öljymäinen tuote liuotetaan 20 millilitraan tislattua vettä ja liuos sijoitetaan Dowex 50 x 2 (H⁺-vaihe) hartsia sisältävään kromatografipylvääseen, jonka mitat ovat 36x2,2 cm. Eluointi suoritetaan vedellä. Otetaan talteen 250 millilitraa eluaattia ja se haihdutetaan tyhjiössä 35°C:ssa kuiviin. Jäännös kuivataan eksikaattorissa fosforipentoksidin yläpuolella. Kiinteä, valkoinen, hyfroskooppinen aine kiteytetään uudelleen seoksesta, joka sisältää tilavuussuhteessa 1:9 vettä ja asetonia. Saadaan 3,13 g (87 %) N-karbobentsoksi-β-aminobutyryylietanoliamiinifosfaattia.

Tuote sulaa 169-171°C:ssa.

Kaliumbromidissa saatu IR-spektri osoittaa seuraavat luonteenomaiset absorptiionauhat: =NH(amidi) 3323, =P-OH 3500-2000, -O-CO-NH- (karbobentsoksi) 1684, =CO(amidi) 1642, =NH(amidi) 1548, =P=O(H-sidos) 1080, -C-O-P=O (fosforihappoesteri) 1283, =P-O-alkyyli 1050 950 cm⁻¹.

Esimerkki 2

3,13 g:aan esimerkin 1 mukaisesti valmistettua karbobentsoksi-β-aminobutyryylietanoliamiinifosfaattia lisätään 10 ml jääetikkaa ja 15 ml bromivedyn jääetikkaliuosta (3,3 moolia HBr/litra). Seos saa seistä huoneen lämpötilassa 2 tuntia, sitten seos haihdutetaan kuiviin 35°C:ssa vakuumissa. Jäännöksenä saatua öljyä hierretään eetterissä, eetteriliuos dekantoidaan. Tämä toistetaan useita kertoja. Raakatuote kiteytetään uudestaan vesi/metanoli seoksesta 1:9. Saadaan 1,83 g (81 %) β-aminobutyryylietanoliamiinifosfaattia, sp. 207°C. IR-spektrissä (KBr) on seuraavat luonteenomaiset absorptiionauhat: =NH (amidi) 3295, -NH₃⁺ OH⁻ 3200-2000, =CO(amidi) 1642, =NH(amidi) 1558, =P=O (H-sidoksessa) 1145, =P-O-C- (asymmetrinen) 1045 (leveä), =P-O-C- (symmetrinen) 957 cm⁻¹.

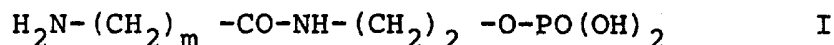
Analyysi kaavan C₆H₁₅N₂O₅P mukaan (M = 226,182)

Laskettu: C 31,86 %, H 6,68 %, N 12,39 %, P 13,70 %

Havaittu: C 31,50 %, H 6,97 %, N 12,04 %, P 13,40 %.

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökelpoisten asyloitujen etanoliamiinifosfaattien valmistamiseksi, joiden kaava on



jossa m on 2 tai 3, ja niiden suolojen valmistamiseksi, t u n -
n e t t u siitä, että yleisen kaavan II



mukaisen hapon reaktiivinen esterijohdannainen, edullisesti fenyyli-
esteri, jossa kaavassa R on vety tai aralkoksikarbonyyliryhmä, edul-
lisesti karbobentsoksiryhmä, ja m merkitsee samaa kuin edellä, saa-
tetaan reagoimaan kaavan III

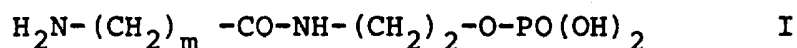


mukaisen yhdisteen kanssa, ja saadusta yhdisteestä poistetaan mah-
dollinen suojaryhmä R hydrolyysillä tai katalyyttisesti hydraamal-
la, ja kaavan I mukainen yhdiste muutetaan haluttaessa farmakologi-
sesti hyväksyttäväksi suolaksi.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t -
t u siitä, että suojaryhmä R poistetaan hydrolyysillä.

Patentkrav:

1. Förfarande för framställning av terapeutiskt användbara acylerade etanolaminfosfater med formeln



vari m är 2 eller 3, och deras salter, k ä n n e t e c k n a t därav, att ett reaktivt esterderivat, företrädesvis fenylestern av en syra med den allmänna formeln II



vari R är väte eller en aralkoxikarbonylgrupp, företrädesvis en karbobensoxigrupp, omsätts med en förening med formeln III



och en eventuell skyddsgrupp R avlägsnas med hydrolys eller katalytisk hydrering från den erhållna föreningen, och föreningen med formeln I överförs, om så önskas, i ett farmaceutiskt godtagbart salt.

2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att skyddsgruppen R avlägsnas med hydrolys.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Kuulutusjulkaisuja:-Utläggningsskrifter: Japani-Japan(JP) 7 404 210
ref. Chem. Abstr. vol. 81 (1974), 7823 z.