

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2003-2380

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷:

C07C 217/48

A61K 31/138

A61P 25/00

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **20.02.2002**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **06.03.2001**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2001/273730**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu:

(Věstník č: 3/2004)

(86) PCT číslo: **PCT/US2002/003385**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2002/070457**

(71) Přihlašovatel:

ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN, US

(72) Původce:

Mattiuz Edward Louis, Fishers, IN, US

Sauer John-Michael, Indianapolis, IN, US

Wheeler William Joe, Indianapolis, IN, US

Wong David Taiwai, Indianapolis, IN, US

(74) Zástupce:

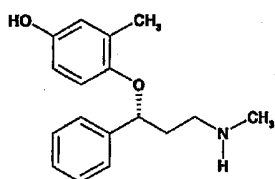
Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000

(54) Název přihlášky vynálezu:

Inhibitor příjmu monoaminů

(57) Anotace:

Sloučeniny vzorce I a způsoby pro inhibici příjmu monoaminů u savců.



I

CZ 2003 - 2380 A3

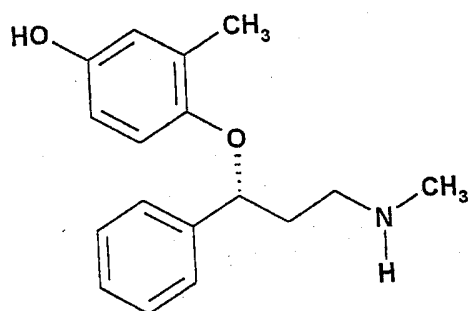
Inhibitor příjmu monoaminů

Oblast techniky

Byl zjišťován vztah mezi příjmem monoaminů a řadou neurologických poruch u savců, přičemž 3-aryloxy-3-substituované-1-aminopropany vykazovaly mimořádně různorodou schopnost inhibovat příjem monoaminů. Bylo zjištěno, že někteří zástupci třídy 3-aryloxy-3-substituovaných-1-aminopropanů jsou prospěšní při léčbě neurologických poruch. Například fluoxetin, N-methyl-3-[(4-trifluormethylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan hydrochlorid, je selektivní inhibitor příjmu serotoninu, který je často používán při léčbě deprese a byl schválen k léčbě mnoha dalších poruch. Atomoxetin, (-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan hydrochlorid, je selektivní inhibitor příjmu noradrenalinu (norepinefrinu), který je klinicky zkoušen pro léčbu nedostatku pozornosti/hyperaktivity. Duloxetin, (+)-N-methyl-3-(1-naftalenyloxy)-3-(2-thienyl)-1-aminopropan hydrochlorid, inhibuje příjem jak noradrenalinu, tak i serotoninu a v současné době je klinicky testován pro léčbu deprese. Tyto sloučeniny patří do skupiny 3-aryloxy-3-substituovaných-1-aminopropanů uváděných v US patentových spisech 4018895, 4194009, 4314081, 4956388 a 5023269. Avšak prospěšnost hydroxylovaného 3-fenoxy-3-fenyl-1-aminopropanu nebyla doposud doceněna.

Podstata vynálezu

Tento vynález poskytuje sloučeninu vzorce I:



(I)

nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl.

Tento vynález také poskytuje farmaceutický přípravek, který obsahuje sloučeninu vzorce I společně s farmaceuticky přijatelným nosičem, ředidlem a vehikulem.

Tento vynález poskytuje způsob inhibice příjmu noradrenalinu a serotoninu u savců, přičemž v případě potřeby takové inhibice zahrnuje podávání farmaceuticky účinného množství sloučeniny vzorce I savcům.

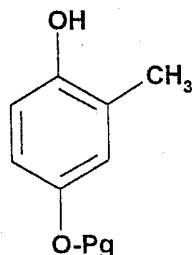
Dalším provedením tohoto vynálezu je způsob inhibice příjmu noradrenalinu a serotoninu u savců z důvodu léčby mnoha poruch, které byly spojovány se sníženou neurotransmisí serotoninu a/nebo noradrenalinu u savců. Mezi tyto poruchy patří: deprese, migréna, bulimie, předmenstruační syndrom nebo syndrom pozdní luteální fáze, alkoholismus, závislost na tabáku, panická porucha, úzkost, všeobecná bolest, posttraumatický syndrom, ztráta paměti, senilní demence, sociální fobie, nedostatek pozornosti/hyperaktivita, lupénka, vzdorovitost, porucha přenosu, hraniční porucha osobnosti, porucha utkvělé nutkavosti, syndrom chronické únavy, předčasná ejakulace, problémy s erektilitou, anorektická nervozita, poruchy spánku, autismus, mutismus, alergická rinitida, symptomy

nachlazení, narkolepsie, inkontinence, trichotilomanie, bolest trojklanného nervu, bolest zubů nebo bolest při disfunkci temperomandibulárního kloubu. Kterýkoliv z těchto způsobů využívá sloučeninu vzorce I.

Tento vynález také poskytuje použití sloučeniny vzorce I k výrobě léčiva inhibujícího příjem noradrenalinu a serotoninu. Dále tento vynález poskytuje farmaceutický přípravek upravený k inhibici příjmu noradrenalinu a serotoninu, který obsahuje sloučeninu vzorce I nebo její metabolický prekurzor.

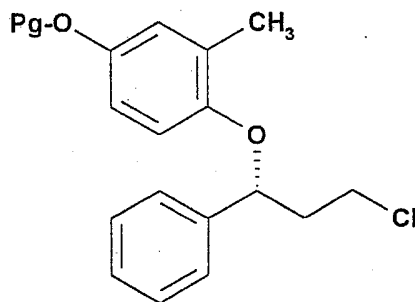
Tento vynález také poskytuje způsob přípravy sloučeniny vzorce I, který zahrnuje následující kroky:

a) kondenzaci sloučeniny vzorce (i)



(i)

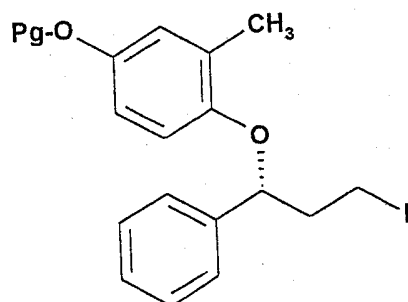
kde „Pg“ je chránicí skupina kyslíku, s 1-chlor-3-fenyl-3-hydroxypropanem za vzniku sloučeniny vzorce (ii):



(ii)

kde „Pg“ je chránicí skupina kyslíku;

b) reakci sloučeniny vzorce (ii) se zdrojem jodidových iontů za vzniku sloučeniny vzorce (iii):



(iii)

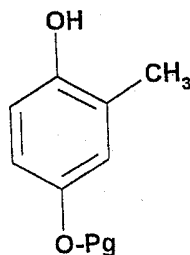
kde „Pg“ je chránicí skupina kyslíku;

c) reakci sloučeniny vzorce (iii) s methyloaminem za vzniku R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu; a

d) případné působení farmaceuticky přijatelnou kyselinou na R-(-)-N-methyl 3-((2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy)-3-fenyl-1-aminopropan.

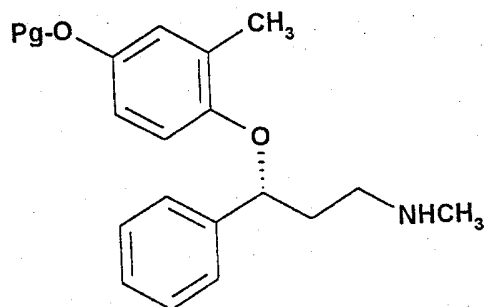
Tento vynález také poskytuje způsob přípravy sloučeniny vzorce I, který zahrnuje následující kroky:

a) kondenzaci sloučeniny vzorce (i)



(i)

kde „Pg“ je chránicí skupina kyslíku, s (S)-1-fenyl-3-methylaminopropan-1-olem za vzniku sloučeniny vzorce (iv):



(iv)

- kde „Pg“ je chránicí skupina kyslíku;
- b) reakcí sloučeniny vzorce (iv) s činidlem odstraňujícím chránicí skupinu za vzniku R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu; a
- c) případné působení farmaceuticky přijatelnou kyselinou na R-(-)-N-methyl 3-((2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy)-3-fenyl-1-aminopropan.

Sloučeniny vzorců (ii), (iii) a (iv) jsou užitečné meziprodukty pro přípravu sloučenin vzorce I a představují další provedení tohoto vynálezu.

Sloučenina vzorce I je obecně označována jako R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan. Protože je tato sloučenina amin, má bazický charakter a reaguje s mnoha anorganickými a organickými kyselinami za vzniku farmaceuticky přijatelných kyselých adičních solí. Pro usnadnění manipulace a podávání je výhodnější přeměnit tento volný amin na farmaceuticky přijatelnou adiční sůl s kyselinou. Mezi kyseliny běžně používané pro tvorbu solí patří anorganické kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková, kyselina sírová, kyselina orthofosforečná a podobně, a organické kyseliny, jako je

kyselina p-toluensulfonová, kyselina methansulfomová, kyselina šťavelová, kyselina p-bromfenylsulfonová, kyselina uhličitá, kyselina jantarová, kyselina citronová, kyselina benzoová, kyselina octová a podobně. Mezi příklady farmaceuticky přijatelných solí patří síran, disíran, hydrogensíran, siřičitan, hydrogensiřičitan, fosforečnan, monohydrogenfosforečnan, dihydrogenfosforečnan, metafosforečnan, chlorid, bromid, jodid, acetat, propionat, dekanolat, kaprylat, akrylat, formiat, isobutyryl, kaproat, heptanoat, propiolat, oxalat, malonat, jantaran, suberat, sebakat, fumarat, maleat, butin-1,4-dionat, hexin-1,6-dioat, benzoat, chlorbenzoat, methylbenzoat, dinitrobenzoat, hydroxybenzoat, methoxybenzoat, ftalat, sulfonat, xylensulfonat, fenylacetat, fenylpropionat, fenylbutyrat, citrat, laktat, α -hydroxybutyrat, glykolat, vinan, methansulfonat, propansulfonat, naftalen-1-sulfonat, naftalen-2-sulfonat, mandelat a podobně. Výhodné farmaceuticky přijatelné soli vytváří kyselina chlorovodíková a kyselina šťavelová.

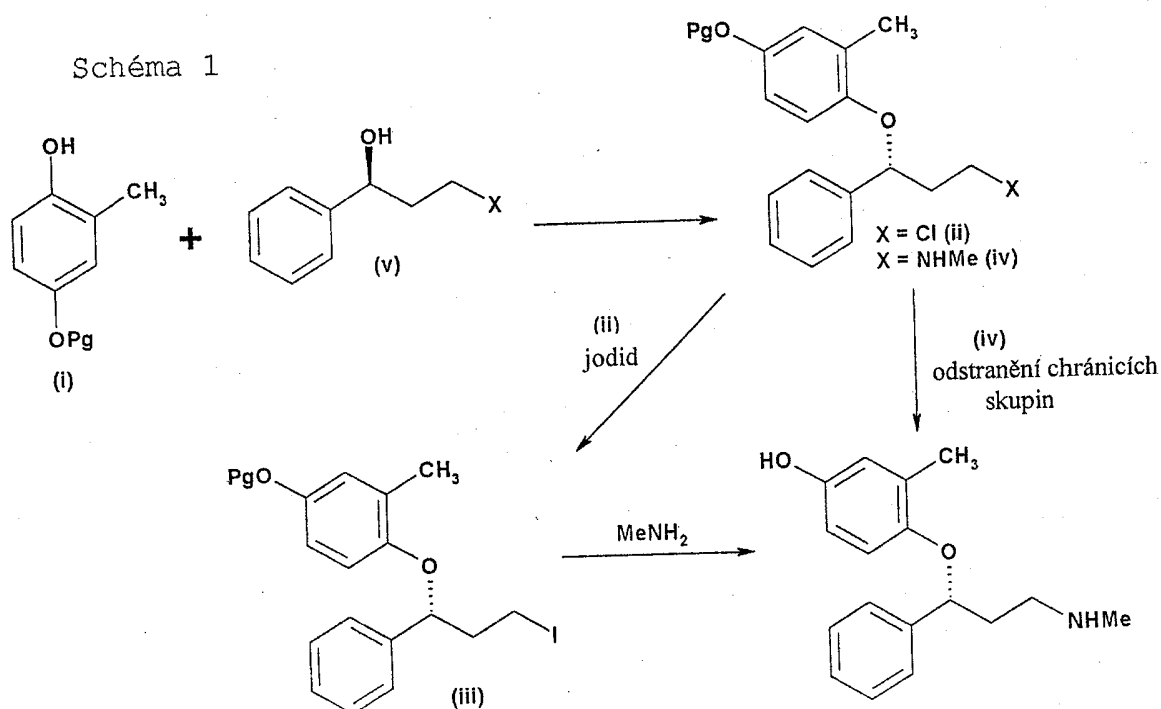
Sloučenina vzorce I je chirální a může být připravena chirální chromatografií racemických nebo enantiomerně obohacených forem sloučeniny vzorce I nebo frakční krystalizací solí připravených z racemických nebo enantiomerně obohacených forem volného aminu a chirální kyseliny. Alternativně může volný amin reagovat s pomocným chirálním činidlem a enantiomery jsou odděleny chromatograficky, v dalším kroku následuje odstranění pomocného chirálního činidla za opětového vzniku tohoto volného aminu. Separace enantiomerů může být prováděna v kterémkoliv vhodném bodě syntézy sloučenin podle tohoto vynálezu. Výhodně jsou sloučeniny podle tohoto vynálezu

připraveny způsobem, kdy se vychází z chirální výchozí látky.

Tento vynález poskytuje způsob inhibice příjmu serotoninu a noradrenalinu. Tyto mechanismy jsou použitelné u savců a zvláště u lidí.

Strukturní třída 3-aryloxy-3-substituovaných-1-aminopropanových sloučenin je historicky atraktivním cílem pro syntézu, a proto v literatuře bylo popsáno mnoho vhodných syntéz. Syntézy atomoxetinu, R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu, dříve známého jako tomoxetin, a fluoxetinu jsou například popsány v Tetrahedron Letters, 30(39), 5207 (1989); Tetrahedron Letters, 35(9), 1339 (1994); Tetrahedron Letters, 53(20), 6739 (1997); WO 99/18947; WO 00/58262 a WO 00/61540. R-(-)-N-Methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan může být výhodně připraven způsobem znázorněným v následujícím schématu, kde „Pg“ je chránicí skupina kyslíku a „X“ je buď chlor nebo NHMe.

Schéma 1



Požadované fenoly vzorce (i) mohou být připraveny standardními způsoby syntézy z komerčně dostupného methylhydrochinonu zaváděním vhodné chránicí skupiny kyslíku. Vhodné chránicí skupiny kyslíku pro fenoly jsou dobře známy odborníkům v oboru a jsou popsány v publikaci od Greene a Wuts (Protective Groups in Organic Synthesis, třetí vydání, John Wiley and Sons, New York (1999)). Výhodnými chránicími skupinami pro způsob podle tohoto vynálezu jsou alkanoylestery a silylestery. Zvláště výhodnými chránicími skupinami kyslíku jsou acetyl, terc-butoxykarbonyl a terc-butyldimethylsilyl. Zvláště výhodné je použití terc-butoxykarbonylu.

Sloučeniny vzorce (v) jsou dobře známy v oboru a mohou být připraveny standardními způsoby syntézy. Syntézy 1-fenyl-1-hydroxy-3-chlorpropanu (v, X = Cl) byly popsány v Corey a Reichard, Tetrahedron Letters, 30(39), 5207 - 5210(1989); Srebnik et al. (Journal of Organic Chemistry, 53, 2916 - 2020 (1988); a Schneider a Goergens (Tetrahedron Asymmetry, 3(4), 525-528 (1992)). Syntézy 1-fenyl-1-hydroxy-3-(methylamino)propanu (v, X = NHMe) byly popsány v Koenig a Mitchell (Tetrahedron Letters, 35(9), 1339-1342 (1994)); Gao a Sharpless (Journal of Organic Chemistry, 53, 4081-4084 (1988)); a v Evropském patentovém spise 0 909 754 A1.

Vhodný fenol (i) je spojen buď s 1-fenyl-1-hydroxychlorpropanem (v, X=Cl) nebo s 1-fenyl-1-hydroxy-3-(methylamino)propanem (v, X=NHMe) za standardních Mitsunobuových kondenzačních podmínek v přítomnosti dialkylazodikarboxylátu a trifenylfosfinu. Tímto způsobem je připraven aryether (ii) nebo aryether (iv). Typicky je spojen roztok ekvivalentu fenolu (i) a ekvivalentu alkoholu (v) ve vhodném rozpouštědle s ekvivalenty trifenylfosfinu

v rozmezí od asi 1,0 do asi 1,1. Mezi vhodná rozpouštědla patří jakékoliv rozpouštědlo, které rozpouští dostatečné množství reagujících látek k umožnění reakce bez výrazné interference. Mezi vhodná rozpouštědla patří dioxan, diethylether a tetrahydrofuran. Výhodným rozpouštědlem je tetrahydrofuran. Tento roztok je ochlazován na teplotu od asi -5 °C do asi 5 °C, výhodně od asi 0 °C do asi 5 °C. Reakční směs je udržována v inertní atmosféře buď dusíku nebo argonu. K reakční směsi je přidáváno od asi 1,0 do asi 1,5 ekvivalentu, výhodně 1,1 ekvivalentu dialkylazodikarboxylátu, kterým je výhodně diisopropylazodikarboxylát. Výsledná směs je potom míchána v časovém rozmezí od asi 1 hodiny do asi 24 hodin a následně je požadovaný arylether izolován a čištěn standardními metodami.

Roztok aryletheru (ii) ve vhodném rozpouštědle, výhodně acetonu, je ponechán reagovat s asi 1 molárním ekvivalentem až velkým nadbytkem zdroje jodidového iontu. Přijatelným je jakýkoliv zdroj jodidového iontu, který je kompatibilní s vybraným rozpouštědlem a aryletherem (ii). Mezi výhodné zdroje jodidového iontu patří jodid sodný a jodid draselný. Jodid sodný je výhodným zdrojem jodidového iontu. Výsledný arylether (ii) je izolován a čištěn standardními metodami.

Roztok aryletheru (iii) ve vhodném rozpouštědle, typicky tetrahydrofuranu, je ponechán reagovat s asi ekvivalentem až velkým přebytkem methylaminu. Methylamin může být přidáván do reakční směsi jako plyn, zkapalněný jako kapalina nebo může být přidáván jako vodný roztok. Po ukončení přidávání jsou reagující látky společně míchány v časovém rozmezí od asi 1 hodiny do asi 24 hodin. Požadovaný amin je potom izolován a čištěn standardními metodami. Odborníkovi v oboru je zřejmé, že v závislosti na

charakteru určité chránicí skupiny kyslíku (Pg) bude tímto krokem opětně získána buď sloučenina vzorce (iv) nebo R-(-)-N-methyl 3- [(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan. Jestliže je například Pg acetyl, chránicí skupina je odstraněna v průběhu aminačního kroku.

V případě, že určitá chránicí skupina (Pg) sloučeniny vzorce (iv) musí být odstraněna v samostatném kroku, je odborníkovi v oboru zřejmé, že specifické podmínky pro regeneraci fenolové části závisí na charakteru chránicí skupiny.

Standardní způsoby odstranění chránících skupin kyslíku jsou popsány ve výše uvedené publikaci autorů Greene a Wuts. V případě, že Pg je *terc*-butyldimethylsilyl, chránicí skupina je například výhodně odstraněna působením zdrojem fluoridového iontu na výchozí silyl ether (iv) ve vhodném rozpouštědle. Alternativně, jestliže je Pg je *terc*-butoxykarbonyl, je výhodně chránicí skupina odstraněna působením kyseliny, obvykle kyseliny chlorovodíkové. Výsledný R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan může být následně izolován a čištěn standardními metodami.

Následující přípravy a příklady konkrétněji objasní provedení tohoto vynálezu a přípravu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu.

Příklady provedení vynálezu

Příprava I

4-Acetoxy-2-methylfenol

Acetanhydrid (4,73 g, 4,37 ml, 46,3 mmol) byl po kapkách přidáván ke směsi 4-hydroxy-2-methylfenolu (5 g,

46,3 mmol) a uhličitanu cesného (15,1 g, 46,3 mmol) v acetonitrilu (50 ml). Po míchání přes noc byla tato směs přefiltrována a filtrát byl zahuštěn za sníženého tlaku. Zbytek byl přečištěn chromatograficky na silikagelu, při použití směsi pentan : ethylacetat v poměru 5 : 1 jako elučního činidla. Frakce obsahující produkt byly spojeny a zahuštěny za sníženého tlaku. Tímto postupem bylo připraveno 0,24 g požadované sloučeniny (výtěžek 3 %).

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 1,54 (1H, bs), 2,18 (3H, s), 2,22 (3H, s), 6,59 (1H, m), 6,65 (1H, m), 6,82 (1H, m).

Příprava II

(S)-3-Chlor-1-fenyl-1-propanol

K roztoku (S)-1-fenyl-1,3-propandiolu (125 g, 0,822 mol) v methyl-terc-butyletheru (500 ml) byl přidán triethylamin (135 ml). Reakční směs byla ochlazena na teplotu 0 °C a po kapkách byl po dobu 3 hodin přidáván roztok 4-brombenzensulfonylchloridu (230 g, 0,92 mol) v methyl-terc-butyletheru (300 ml) a tetrahydrofuranu (300 ml). Po dokončení přidávání byla reakční směs míchána po dobu 3 hodin při teplotě 0 °C a potom byla zahřáta na laboratorní teplotu. Po 18 hodinách míchání při laboratorní teplotě byl přidán benzyltriethylamoniumchlorid (210 g, 0,92 mol) a výsledná směs byla zahřívána při teplotě 55 °C po dobu 3 hodin. Reakční směs byla potom ochlazena na laboratorní teplotu a zředěna vodou. Po oddělení organické fáze byla vodná fáze 2x extrahována diethyletherem. Spojené organické extrakty byly promyty 1,0 N kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného, vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného, potom byly vysušeny síranem

hořečnatým a odpařeny za sníženého tlaku. Tímto postupem byla připravena bělavá tuhá látka (160 g), která byla přečištěna chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetát/hexan v poměru 1 : 9, čímž bylo získáno 110 g titulní sloučeniny (výtěžek 80 %).

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ (400 MHz) δ : 2,20 (m, 1H), 2,45 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 4,95 (m, 1H), 7,45 (m, 5H).

MS (FAB): m/z = 172,0 (10 %), 170 (23 %), 154 (10 %), 132 (25 %), 117 (5 %), 107 (100 %), 79 (54 %), 77 (45 %), 51 (19 %).

Příprava III

4-[(*tert*-Butoxykarbonyl)oxy]-2-methylfenol

Di-*tert*-butoxykarbonat (52,4 g, 0,24 mol) v tetrahydrofuranu (100 ml) byl přidán po kapkách při laboratorní teplotě k roztoku methylhydrochinonu (99,2 g, 0,80 mol) a dimethylaminopyridinu (4,8 g, 4,0 mmol) v diethyletheru (1,1 l). Po 40 minutách míchání byla reakční směs zředěna 1N kyselinou chlorovodíkovou (200 ml). Organická vrstva byla oddělena, promyta nasyceným roztokem chloridu sodného (200 ml) a odpařena na surový olej, který tuhne při stání. Přečištění surové tuhé látky prostřednictvím rychlé chromatografie (Biotage 75) při použití směsi hexan/ethylacetát v poměru 94 : 6 poskytlo bělavou tuhou látku, která byla překrystalizována ze směsi dichlormethan/hexan (15 : 85). Tímto postupem bylo připraveno 28,5 g (53 %) titulní sloučeniny.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : (300 MHz) 1,55 (s, 9H), 2,22 (s, 3H), 4,76 (s, 1H), 6,68 (d, J = 8,78 Hz, 1H), 6,85 (dd, J = 8,78 Hz a 2,92 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 2,92 Hz, 1H).

MS(FAB): m/z = 225,3; 211,3; 169,3; 155,2; 124,2.

Příklad 1

R-(-)-N-Methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanoxalát

(R)-3-Chlor-1-fenyl-1-(2-methyl-4-acetoxifyenoxy)propan

Roztok (S)-(-)-3-chlor-1-fenyl-1-propanolu (0,204 g, 1,20 mmol), 4-acetoxy-2-methylfenolu (0,200 g, 1,20 mmol) a trifenylofosfinu (0,346 g, 1,32 mmol) v 10 ml tetrahydrofuranu byl ochlazen na teplotu 0 až 5 °C v atmosféře argonu. K této směsi byl přidáván po kapkách di-isopropylkarboxylát (0,26 ml, 1,32 mmol) v tetrahydrofuranu (2 ml). Výsledná směs byla míchána po dobu 1 hodiny při teplotě 0 až 5 °C a potom byla ponechána, aby se ohřála na laboratorní teplotu. Po míchání přes noc při laboratorní teplotě byla reakční směs odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl rozetřen s 10% ethylacetátem v pentanu a míchán, dokud se nestala suspendovaná tuhá látka krystalickou. Tato suspenze byla přefiltrována a regenerovaná krystalická tuhá látka byla promyta 10% ethylacetátem v pentanu. Spojené filtráty byly odpařeny za sníženého tlaku a zbytek byl přečištěn chromatografií na silikagelu za použití toluenu jako elučního činidla. Frakce obsahující produkt byly spojeny a odpařeny za sníženého tlaku. Tímto postupem bylo připraveno 0,205 g (54 %) požadované sloučeniny ve formě světle žlutého oleje.

MS(FD): m/e = 318 (M^+).

(R)-3-Jod-1-fenyl-1-(2-methyl-4-acetoxyfenoxy) propan

Směs (R)-3-chlor-1-fenyl-1-(2-methyl-4-acetoxyfenoxy)propanu (0,200 g, 0,63 mmol) a 15 ml acetonu nasyceného jodidem draselným byla míchána přes noc za varu pod zpětným chladičem v atmosféře argonu. Potom byla reakční směs nalita do 50 ml diethyletheru a výsledná suspenze byla přefiltrována. Filtrát byl promyt nasyceným vodným roztokem hydrogensířičitanu sodného a následně vodou. Zbývající organická fáze byla vysušena síranem hořečnatým a odpařena za sníženého tlaku. Tímto postupem bylo připraveno 0,18 g (výtěžek 70 %) požadované sloučeniny ve formě bezbarvého oleje.

MS(FD): $m/e = 410$ (M^+).

Aminace

Směs (R)-3-jod-1-fenyl-1-(2-methyl-4-acetoxyfenoxy)propanu (0,180 g, 0,44 mmol) a 40% vodného methylaminu (5 ml, 71 mmol) v 15 ml tetrahydrofuranu byla míchána přes noc při laboratorní teplotě. Potom byla reakční směs odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl rozdělen mezi vodu a ethylacetát. Ethylacetátová fáze byla promyta vodou, vysušena síranem hořečnatým a odpařena za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu a podroben reakci s kyselinou šťavelovou (0,04 g, 0,44 mmol). Výsledná tuhá látka byla získána filtrací, promyta ethylacetátem a vysušena za sníženého tlaku. Tímto postupem bylo připraveno 0,107 g titulní sloučeniny (výtěžek 67 %). MS(FD): $m/e = 271$ (M^+).

Elementární analýza:

Vypočtená hodnota pro $C_{19}H_{23}NO_6$: C: 63,15, H: 6,41, N: 3,88

Zjištěno:

C: 63,32, H: 6,59, N: 3,99.

Příklad 2

R-(-)-N-Methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan hydrochlorid

(R)-3-Chlor-1-fenyl-1-(2-methyl-4-O-terc-butoxykarboxy-fenoxy)propan

V peci vysušená trojhrdlá 2-litrová baňka s kulatým dnem byla naplněna (S)-3-chlor-1-fenylpropanolem (52 g, 304 mmol), 4-[(terc-butoxykarbonyl)oxy]-2-methylfenolem (73,86 g, 329 mmol), trifenyfosfinem (87,36 g, 333 mmol) a bezvodým tetrahydrofuranem (600 ml). Reakční směs byla ochlazená na teplotu 0 °C a potom byl k ní přidáván po dobu přesahující 6 hodin roztok diisopropylazadikarboxylátu (76 ml, 365 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (100 ml). Reakční směs byla dále míchána při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin a následně byla reakční směs odpařena za sníženého tlaku. Na zbytek bylo působeno 2 l směsí pentan:ethylacetát v poměru 9 : 1. Výsledná suspenze byla ponechána při teplotě -20 °C po dobu 24 hodin a následně byla nerozpustná látka oddělena filtrací. Sraženina byla promyta směsí pentan : ethylacetát (9 : 1, 200 ml). Koncentrované filtráty byly odpařeny za sníženého tlaku. Surový zbytek (150 g) byl přečištěn rychlou chromatografií s předem naplněnou kolonou Biotage za použití 3% ethylacetátu v hexanu. Tímto postupem byl připraven (R)-3-chlor-1-fenyl-1-(2-methyl-4-[(terc-butoxykarbonyl)-fenoxy] propan (100 g) s výtěžkem 85 %.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: (400 MHz) 1,50 (s, 9H), 2,20 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,46 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 5,31 (m, 1H), 6,56 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,72 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 7,32 (s, 4H).

^{13}C -NMR(CDCl_3) δ : (75 MHz) 15,27; 16,59; 27,69; 41,25; 41,48; 83,20; 113,15; 113,17; 118,42; 122,21; 123,42; 125,39; 125,81; 127,93; 128,80; 140,77; 144,29; 152,46; 153,44.

MS(FD): m/z = 376,145.

Elementární analýza: Vypočtená hodnota pro $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ClO}_4$:

C: 66,93; H: 6,69; Cl: 9,41;

Zjištěno: C: 66,94; H: 6,74; Cl: 9,67.

(R)-3-Jod-1-fenyl-1-(2-methyl-4-[(terc-butoxykarbonyl)-oxy]fenoxy]propan

Suchá 1-litrová baňka s kulatým dnem byla naplněna (R)-3-chlor-1-fenyl-1-{2-methyl-4-[(terc-butoxykarbonyl)oxy]fenoxy}propanem (18,00 g, 47,80 mmol), jodidem sodným (90,0 g, 600 mmol) a 2-butanonem (550 ml). Reakční baňka byla chráněna před světlem. Reakční směs byla míchána za varu pod zpětným chladičem v atmosféře dusíku po dobu 16 hodin. Směs byla ochlazena na laboratorní teplotu a nalita do etheru (1 l). Nerozpustné anorganické soli (bílá sraženina) byly odstraněny filtrací. Filtrát byl zahuštěn za sníženého tlaku a surový zbytek byl rozpuštěn v diethyletheru (1 l). Etherová vrstva byla promyta studeným nasyceným roztokem hydrogensířičitanu sodného (2x 200 ml), vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem hořečnatým a zahuštěna za sníženého tlaku. Zbytek byl přečištěn rychlou chromatografií za použití 20% ethylacetátu v hexanu jako elučního činidla. Tímto postupem bylo připraveno 20,5 g požadované sloučeniny (výtěžek 91 %).

^1H -NMR(CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1,56 (s, 9H), 2,30 (s, 3H), 2,40 (1H, m), 2,50 (1H, m), 3,25 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 5,21 (m,

1H), 6,55 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,95 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,37 (m, 4H).

MS(FAD): m/z= 468,0 (100%), 342(10%).

Elementární analýza:

Vypočtená hodnota pro C₂₁H₂₅IO₄: C: 53,86; H: 5,38.

Zjištěno: C: 53,36; H: 4,79.

Aminace/odstranění chránících skupin/tvorba soli

(R)-3-Jod-1-fenyl-1-{2-methyl-4-[(terc-butoxy-karbonyl)oxy]fenoxy}propan (20,0 g, 42,66 mmol) bylo rozpuštěno v bezvodém tetrahydrofuranu (100 ml). Roztok byl podroben reakci s methylaminem (300 ml, 2M roztok v tetrahydrofuranu) v prostředí atmosféry dusíku a reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 15 hodin, potom byla reakční směs odpařena do sucha. Ke zbytku byl přidán ethylacetát a studená voda. Tyto dvě vrstvy byly odděleny. Vodná vrstva byla extrahována ethylacetátem. Spojené organické vrstvy byly důkladně promyty studeným nasyceným roztokem hydrogensířičitanu sodného a studenou vodou, potom byly vysušeny síranem hořečnatým a zahuštěny za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu. Tento roztok byl extrahován ledově studenou 0,1N kyselinou chlorovodíkovou. Lyofilizací vodného roztoku byla získána žlutá tuhá látka, která byla rozpuštěna v methanolu a přečištěna přes krátkou kolonu aktivního uhlí, Norit, velikosti 100 mesh (2 % aktivního uhlí). Následně bylo odstraněno rozpouštědlo a výsledná hydrochloridová sůl byla vysrážena po rozetření s minimálním množstvím vody. Hydrochloridová sůl byla překrystalizována ve vodě, čímž byl připraven požadovaný produkt (7,22 g, výtěžek 55 %).

¹H-NMR (DMSO 300 MHz) δ: 2,12 (m, 1H), 2,15 (s, 3H), 2,20 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,99 (m, 2H), 5,31 (m, 1H), 6,33

(dd, $J = 8,7$ Hz a $2,56$ Hz, 1H), $6,51$ (m, 1H), $7,29$ (m, 1H), $7,34$ (m, 5H), $8,77$ (s, 1H), $8,85$ (br s, 1H).

MS(FAD): $m/z = 272,4$

Elementární analýza:

Vypočtená hodnota pro $C_{17}H_{21}NO_2 \cdot HCl$:

C: $66,33$; H: $7,20$; N: $4,55$; Cl: $11,52$.

Zjištěno: C: $66,23$; H: $7,22$; N: $5,37$; Cl: $11,23$.

Všechny příslušné sloučeniny jsou orálně dostupné, jsou tak i běžně podávány a orální podávání je výhodné. Avšak orální podávání není jediným způsobem podávání nebo dokonce jediným výhodným způsobem. Například transdermální podávání může být velmi vhodné u pacientů, kteří jsou zapomětliví nebo mají výhrady vůči orálnímu podávání léčiva. Sloučeniny vzorce I mohou také být za určitých okolností podávány perkutánně, intravenózně, intramuskulárně, intranazálně nebo intrarektálně. Způsob podávání se může jakkoliv měnit podle dalších souvisejících okolností, je omezen fyzikálními vlastnostmi léčiv, výhodností pro pacienta a ošetřovatele (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Co. (1990)).

Farmaceutické prostředky jsou připraveny způsobem dobře známým ve farmaceutickém oboru. Nosičem nebo vehikulem může být tuhá, polotuhá nebo kapalná látka, která slouží jako přenašeč nebo prostředí pro aktivní složku. Vhodné nosiče nebo vehikula jsou dobře známy v oboru. Farmaceutický prostředek může být upraven pro orální, inhalační, parenterální nebo místní použití a může být podáván pacientům ve formě tablet, kapslí, sprejů, inhalačních prostředků, čípků, roztoků, suspenzí nebo podobně.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou být podávány orálně, například s inertním ředidlem, v kapslích nebo v lisovaných tabletách. Pro účely orálního podávání mohou být tyto sloučeniny smíchány s vehikuly a používány ve formě tablet, pastilek, kapslí, elixírů, suspenzí, sirupů, oplatek, žvýkaček a podobně. Tyto přípravky by měly obsahovat alespoň 4 % sloučeniny podle tohoto vynálezu, ale aktivní složka se může měnit v závislosti na konkrétní formě a může obvykle tvořit 4 hmotn. % až 70 hmotn. % jednotky. Množství sloučeniny přítomné v prostředcích je takové, aby bylo dosaženo vhodného dávkování. Výhodné prostředky a přípravky podle tohoto vynálezu mohou být určeny odborníkem v oboru.

Tyto tablety, pilulky, kapsle, pastilky a podobně mohou také obsahovat jednu nebo více z následujících pomocných látek: pojiva, jako je mikrokrystalická celulóza, tragant nebo želatina; vehikula, jako je škrob a laktóza, bobtnadla, jako je alginová kyselina, Primogel, kukuřičný škrob a podobně, maziva, jako je stearat hořečnatý nebo Sterotex; kluzné látky, jako je koloidní oxid křemičitý; a sladidla, jako je sacharóza nebo sacharin, nebo aromatizační prostředky, jako je silice máty peprné, methylsalicylat nebo pomerančové aroma. Jestliže dávkovací jednotková forma je kapsle, může dále obsahovat kromě výše uvedených látek i kapalný nosič, jako je polyethylenglykol nebo mastný olej. Jiné dávkovací jednotkové formy mohou obsahovat různé další látky, které modifikují fyzikální formu dávkovací jednotky, jako jsou například povlaky. Tak tablety nebo pilulky mohou být potaženy cukrem, šelakem nebo dalšími potahovými prostředky. Sirup může obsahovat kromě uvedených sloučenin také sacharózu jako sladidlo a určité konzervační prostředky, barviva, barvící a

aromatizační prostředky. Látky používané při přípravě těchto různých prostředků by měly být farmaceuticky čisté a netoxické v používaných množstvích.

Přípravek vhodný pro podávání hydrochloridu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu (atomoxetin), metabolického prekursoru R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu obsahuje suchou směs hydrochloridu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu s ředidlem a mazivem. Škrob, jako předželatinovaný kukuřičný škrob, je vhodným ředidlem a silikonový olej, jako dimethicon, je vhodným mazivem pro použití v tvrdých želatinových kapslích. Vhodné přípravky jsou připraveny tak, že obsahují od asi 0,4 do 26 % hydrochloridu R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu, asi 73 až 99 % škrobu a asi 0,2 až 1 % silikonového oleje. Následující tabulka ukazuje zvláště výhodné přípravky:

Složka (%)	2,5mg	5 mg	10 mg	18 mg	20 mg	25 mg	40 mg	60 mg
R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-fenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan hydrochlorid	1,24	2,48	4,97	8,94	9,93	12,42	19,87	22,12
Dimethicon	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Předželeťinovaný škrob	98,26	97,02	94,53	90,56	89,57	87,08	79,63	77,38

Složka (mg/kapsli)	2,5 mg	5 mg	10 mg	18 mg	20 mg	25 mg	40 mg	60 mg
R-(-)-N-methyl 3-[(2- methylyfenyl)- oxy]-3-fenyl-1- aminopropan hydrochlorid	2,86	5,71	11,43	20,57	22,85	28,57	45,71	68,56
Dimethicon	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15
Předželetinovaný škrob	225,99	223,14	217,42	208,28	206,00	200,28	183,14	239,89
Hmotnost náplně kapsle (mg)	230	230	230	230	230	230	230	230
Velikost kapsle	3	3	3	3	3	3	3	3

Pro účely parenterálního podávání mohou být sloučeniny podle tohoto vynálezu vmíchány do roztoku nebo suspenze. Tyto přípravky obvykle obsahují alespoň 0,1 % sloučeniny podle tohoto vynálezu, ale obsah této sloučeniny se může pohybovat v rozmezí od 0,1 do 90 hmotn. %. Množství sloučeniny vzorce I přítomné v těchto prostředcích je takové, aby bylo dosaženo vhodného dávkování. Tyto roztoky a suspenze mohou také obsahovat jednu nebo více z následujících pomocných látek: sterilní ředidla, jako je voda pro injekce, fyziologický roztok, netuhnoucí směsi, polyethylenglykoly, glycerín, propylenglykol nebo jiná syntetická rozpouštědla; antibakteriální prostředky, jako je benzylalkohol nebo methylparaben; antioxidanty, jako je kyselina askorbová, hydrogensířičitan sodný; chelatační činidla, jako je kyselina ethylendiamintetraoctová; pufry, jako jsou acetáty, citráty nebo fosforečnany a prostředky přípravu tonicity, jako je chlorid sodný nebo dextróza.

Parenterální přípravek může být uzavřen v ampulích, jednorázových injekčních stříkačkách nebo lahvičkách s více dávkami zhotovených ze skla nebo plastu. Výhodné prostředky a přípravky mohou být určeny odborníky v oboru.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou také být podávány místně. Nosič u těchto prostředků může vhodně obsahovat roztok, mast nebo gelový základ. Tento základ může například obsahovat jednu nebo více z následujících látek: technickou vazelinu, lanolín, polyethylenglykoly, včelí vosk, minerální olej, ředidla, jako je voda a alkohol, a emulgátory a stabilizátory. Přípravky pro místní podávání mohou obsahovat sloučeninu vzorce I nebo její farmaceutickou sůl v rozmezí koncentrací od asi 0,1 do asi 10 % hmotn./obj.

Odborníkovi v oboru je zřejmé, že R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan může být připraven přeměnou, například enzymatickou nebo kyselou katalýzou, metabolického prekursoru R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu. Metabolický prekursor R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu je sloučenina, která je přeměněna na R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan in vivo po podání tohoto metabolického prekursoru savcům. Proto kromě způsobů popsaných v předcházejících odstavcích může být podávání R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu prováděno podáváním metabolického prekursoru R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu. Takový metabolický prekursor by byl podáván v takovém dávkovacím množství, které by vyvolávalo účinnou inhibici serotoninu a noradrenalinu bez působení škodlivých a nežádoucích vedlejších účinků.

Mezi prekurzory R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu patří estery karboxylových kyselin, estery sulfonátů, estery aminokyselin a ethery hydroxyčásti vzorce I. Dále bylo zjištěno, že R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan může být připraven enzymatickou přeměnou R-(-)-N-methyl 3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu (atomoxetinu) in vivo. Proto výhodným způsobem systémového podávání R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu je orální podávání hydrochloridu R-(-)-N-methyl 3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu (atomoxetinu) savcům. Systémové podávání R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu může být výhodně prováděno orálním podáváním hydrochloridu R-(-)-N-methyl 3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu, atomoxetinu, savcům jako metabolického prekurzoru R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu.

Mikrodialyzační zkoušky monoaminů

Krysám rodu Sprague-Dawley (Harlan nebo Charles River) vážícím 270 až 300 g byly v anestezii chirurgicky implantovány mikrodialyzační sondy. Anestezie byla prováděna za použití chloralhydrátu a pentobarbitalu v 30% propylenglykou a 14% ethanolu, přičemž roztok těchto látek byl aplikován intraperitoneálně v dávce 170 a 36 mg/kg, jak je popsáno v Perry a Fuller (Perry and Fuller, Effect of fluoxetine on serotonin and dopamine concentration in rat hypothalamus after administration of fluoxetine plus L-5-hydroxytryptophan, Life Sci., 50,1683-90 (1992)). Stereotaxický nástroj (David Kopf) byl použit

k implantování sondy jednostranně v hypothalamu při souřadnicích: rostrální -1,5 mm, laterální -1,3 mm a ventrální -9,0 mm (Paxinos and Watson, 1986). Po 48hodinové době na zotavení byly krysy umístěny do velkých plastických nádob s nainstalovaným napájecím systémem (CMA/120 systém pro volně se pohybující zvířata, Bioanalytical Systems, West Lafayette, IN). Filtrovaný umělý mozkomíšní mok (CSF - cerebrospinal fluid) (150 mM NaCl, 3,0 mM KCl, 1,7 mM CaCl₂ a 0,9 mM MgCl₂) byl perfundován přes sondu rychlostí 1,0 ml/min. Výstup dialyzační linky byl napojen na deseticestný HPLC ventil s 20 μ l smyčkou. Na konci každého třicetiminutového vzorkovacího intervalu byl dialyzát nashromážděný ve smyčce injektován do analytické kolony (Spherisorb 3 μ ODS2, 2X150 mm, Keyetone Scientific).

Tento způsob použitý k měření monoaminů je popsán v publikaci Perry a Fuller (1992). Ve stručnosti, v dialyzátu nashromážděném v 20 μ l smyčce je stanovován 5-HT a NE. Nástřik o objemu 20 μ l je nanesen na kolonu s mobilní fází, která rozdělí NE a 5-HT. (Složení mobilní fáze: 75 mM octan draselný, 0,5 mM kyselina ethylendiamintetraoctová, 1,4 mM kyselina natrium-oktansulfonová a 8% methanol, pH 4,9). Mobilní fáze pro aminovou kolonu je dodávána pumpou s programovatelným průtokem. Počáteční průtok 0,2 ml/min. se zvyšuje na 0,3 ml/min. v 5. minutě a potom se snižuje zpět na 0,2 ml/min. v 26. minutě. Celková doba měření je 30 minut. Za použití programování průtoku je 5-HT eluován kolem 25 minuty. Elektrochemický detektor (EG&G, model 400) je v nastavení s aminovou kolonou nastaven na potenciál 400 mV a citlivost 0,2 nA/V. Bazální hladiny jsou měřeny po dobu alespoň 90 minut před podáním léčiva. Pro podávání

v požadovaných dávkách jsou léčiva připravena ve filtrované deionizované vodě (objem 0,25 až 0,3 ml).

R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan byl v zásadě testován výše popsaným způsobem, přičemž bylo zjištěno, že inhibuje příjem jak serotoninu ($K_i = 43$ nM), tak i noradrenalinu ($K_i = 3,0$ nM).

Metabolismus R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-fenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu ve vztahu k R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu u lidí

Otevřená studie byla prováděna na 7 zdravých mužích, u nichž byl identifikován genotyp CYP2D6 před počátkem studie - 1. skupina EM („extensive metabolizer“) s extenzivním metabolismem a 2. skupina PM („poor metabolizer“) se špatným metabolismem. CYP2D6 je enzym s genetickým polymorfismem majícím za následek alespoň 2 populace jedinců buď s vysokou nebo nízkou metabolickou schopností. Většina lidí je označována jako „extensive metabolizer“ (EM) a mají „normální“ aktivitu CYP2D6. Mutace a delece genu CYP2D6 mají za následek, že existuje menšina lidí (5 až 10% Kavkazanů, 1 % Asiatů), kteří jsou označováni jako „poor metabolizer“ (PM) substrátů CYP2D6.

Vícenásobné 20 mg dávky R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-fenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu byly podávány 2 krát denně po dobu 5 dnů. Ráno 6. dne byla pacientům podána jednotlivá 20 mg dávka tomoxetinu (skutečná dávka byla 19,66 mg) značená radioaktivním izotopem. Radioaktivně značený [3- 14 C]-R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan byl dodáván jako 20mg kapsle hydrochloridu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu obsahujícího dostatečné množství

hydrochloridu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu k přípravě dávky přibližně 3,7 Mbq (100 μ Ci).

Přibližně 12 hodin po ranní dávce 1. až 5. den byla podávána druhá 20mg kapsle s 240 ml vody. Tato večerní dávka byla podávána alespoň 30 minut po večerním „nízkobytkovém“ jídle. Ráno 6. den 20mg kapsle hydrochloridu R-(-)-N-methyl 3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu obsahující 100 μ Ci hydrochloridu [3- 14 C]-R-(-)-N-methyl 3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu byla podána orálně s 240 ml vody 30 minut po ukončení standardní snídani.

Vzorky kompletní krve byly odebírány od EM jedinců 12 hodin před a bezprostředně před podáváním hydrochloridu [3- 14 C]-R-(-)-N-methyl 3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu (kontrolní vzorek před dávkováním) a přibližně 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 a 72 hodin po dávkování. Vzorky kompletní krve byly odebírány od PM jedinců 12 hodin před a bezprostředně před podáváním hydrochloridu [3- 14 C]-R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu (kontrolní vzorek před dávkováním) a přibližně 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192 a 216 hodin po dávkování. Vzorky kompletní krve (přibližně 12 ml) byly odebírány v každém uvedeném časovém bodě do skleněných zkumavek obsahujících heparin jako antikoagulans. Vzorky kompletní krve byly uskladněny na ledu, dokud nebyly odstředěny. K přípravě plazmy byla krev odstředěna přibližně při 3000 ot./min po přibližně dobu 15 minut při teplotě přibližně 4 °C během jednohodinového shromažďování vzorků. Alikvotní díly plazmy byly odebrány ke stanovení radioekvivalentních koncentrací. Zbývající plazma byla skladována při teplotě asi -70 °C až do stanovení

koncentrací konjugovaného a nekonjugovaného N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu, R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu, 3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu nebo metabolitních profilů.

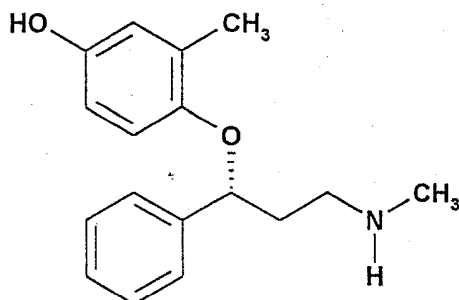
Vzorky heparinizované lidské krve byly analyzovány ke stanovení N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu, R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu za použití schválené APCI LC/MS/MS (kapalinová chromatografie s chemickou ionizací za atmosférického tlaku/hmotnostní spektrometrie/hmotnostní spektrometrie) metody v koncentračních rozmezích od 1,00 do 800,00 ng/ml pro N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan, R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan a v koncentračních rozmezích od 2,50 do 2000,00 ng/ml pro 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan. Další analýza prováděna za použití schválené APCI LC/MS/MS v nižším koncentračním rozmezí od 1,00 do 100,00 ng/ml pro stanovení R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu a R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu a v koncentračním rozsahu od 0,25 do 25,00 ng/ml pro R-(-)-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu.

Primárním metabolitem hydrochloridu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu vytvářeným jak subjekty CYP2D6 EM, tak i PM je R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan. Jednotlivci s EM metabolismem metabolizovali 86,5 % hydrochloridu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu na R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan. Jednotlivci s PM

metabolismem metabolizovali 40 % hydrochloridu R-(-)-N-methyl-3-[(2-methylfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropanu na R-(-)-N-methyl 3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina vzorce I:

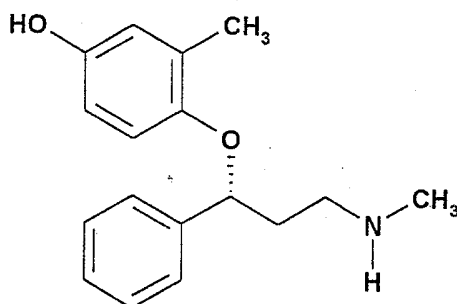


(I)

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Sloučenina R-(-)-N-methyl-3-[(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan hydrochlorid.

3. Farmaceutický přípravek, **vyznačující se tím, že** obsahuje sloučeninu vzorce I:

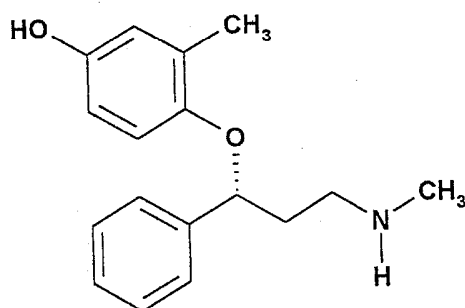


(I)

nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl společně s farmaceuticky přijatelným nosičem, ředidlem nebo vehikulem.

4. Farmaceutický přípravek podle nároku 3, **vyznačující se tím**, že sloučenina vzorce I je R-(-)-N-methyl-3- [(2-methyl-4-hydroxyfenyl)oxy]-3-fenyl-1-aminopropan hydrochlorid.

5. Způsob inhibice příjmu noradrenalinu a serotoninu u savců, **vyznačující se tím**, že zahrnuje podávání farmaceuticky účinného množství sloučeniny vzorce I



(I)

nebo její farmaceuticky přijatelné soli savci, který takovou inhibici potřebuje.

6. Způsob podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že sloučenina vzorce I je podávána systémově.