



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

211394
(11) (B2)

(22) Přihlášeno 14 12 78
(21) [PV 8344-78]
(32) (31) (33) Právo přednosti od 20 12 77
[52939/77] a od 01 11 78 [42727/78]
Velká Británie
(40) Zveřejněno 30 06 81
(45) Vydáno 15 07 84

(51) Int. Cl.³
C 07 F 9/38
C 07 C 103/50
//A 61 K 37/02

(72)
Autor vynálezu

ATHERTON FRANK RATCLIFFE, WELWYN GARDEN CITY, HALL
MICHAEL JOHN, HASSALL CEDRIC HERBERT, LAMBERT ROBERT
WILSON, WELWYN a RINGROSE PETER STUART, HARSTON
(Velká Británie)

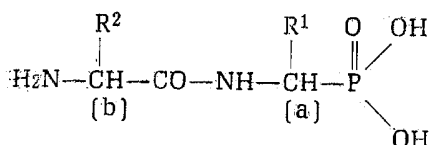
(73)
Majitel patentu

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO., AKTIENGESELLSCHAFT, BASILEJ
(Švýcarsko)

(54) Způsob výroby fosfonových kyselin

1

Vynález se týká způsobu výroby nových
fosfonových kyselin obecného vzorce I,



(I),

ve kterém

R¹ znamená atom vodíku, methylovou skupinu, hydroxymethylovou skupinu nebo mono-, di- nebo trihalogenmethylovou skupinu a

R² představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxyalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo guanidinoalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, s výjimkou skupin tohoto typu vyskytujících se normálně v proteinech, s R-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (a) v případě, že R¹ neznámá atom vodíku, a s L-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (b), a jejich farmaceuticky upotřebitelných solí.

Jako příklady alkylových skupin s 1 až 4 atomy uhlíku lze uvést skupinu ethylovou, propylovou, n-butylovou a terc.butylovou. Jako příklady hydroxyalkylových skupin s 1

2

až 4 atomy uhlíku se uvádějí skupina 2-hydroxyethylová, 3-hydroxypropylová a 4-hydroxybutylová. Halogeny se míní fluor, chlor, brom a jod. Jako příklady halogenmethylových skupin ve významu symbolu R¹ lze uvést chlormethylovou, dichlormethylovou a trifluormethylovou skupinu.

Má-li v obecném vzorci I R¹ jiný význam než atom vodíku, pak na uhlíkovém atomu označeném (a) je konfigurace (R), tj. taková konfigurace, jaké se dosáhne při náhradě karboxylové skupiny v přírodní α-amino-kyselině seskupením —PO₃H₂.

Výhodnou skupinu sloučenin obecného vzorce I tvoří ty látky, v nichž R¹ znamená atom vodíku nebo methylovou skupinu. Výhodnými sloučeninami obecného vzorce I jsou dále ty látky, v nichž R² znamená skupinu ethylovou, n-propylovou nebo n-butylovou.

Jako příklady sloučenin obecného vzorce I se uvádějí:

(1R)-1-[L-(α-aminobutyryl)amino]-
ethylfosfonová kyselina,

(1R)-1-(L-norleucylamino)ethyl-
fosfonová kyselina,

(1R)-1-(L-norvalylamino)ethyl-
fosfonová kyselina,

(1R)-1-[L-(α -aminobutyryl)amino]-
methylfosfonová kyselina,

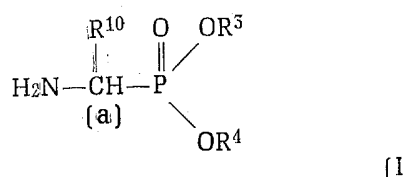
(1R)-1-(L-norleucylamino)methyl-
fosfonová kyselina,

(1R)-1-(L-norvalylamino)methyl-
fosfonová kyselina,

(1R)-1-(L-homoarginylamino)-
ethylfosfonová kyselina a

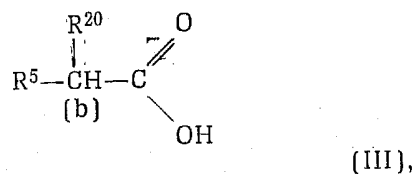
(1R)-1-(L-homoarginylamino)-
methylfosfonová kyselina.

Způsob podle vynálezu se provádí tak, že se sloučenina obecného vzorce II,



ve kterém

R^{10} buď má stejný význam jako R^1 v obecném vzorci I, nebo znamená chráněnou hydroxymethylovou skupinu a každý ze symbolů R^3 a R^4 představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu, s R-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (a) v případě, že R^{10} má jiný význam než atom vodíku, kondenzuje s chráněnou α -aminokyselinou obecného vzorce III,



ve kterém

R^{20} buď má stejný význam jako R^2 v obecném vzorci I, nebo znamená chráněnou hydroxyalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě chráněnou guanidinoalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, a

R^5 představuje chráněnou aminoskupinu, s L-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (b), z produktu kondenzace se odštěpí přítomné chránicí skupiny a výsledný produkt se popřípadě převede na farmaceuticky upotřebitelnou sůl.

Jako chráněné aminoskupiny ve významu symbolu R^5 přicházejí v úvahu skupiny dobře známé z chemie peptidů, s výhodou aminoskupiny chráněné aralkoxykarbonylovými zbytky, zejména benzyloxykarbonylovým zbytkem, nebo terc.butoxykarbonylovou skupinou. Aminoskupina však může být chráněna i formylovým, tritylovým, trifluoracetylovým nebo 2-(bifenyl)isopropoxykarbonylovým zbytkem, nebo může být ve formě ftalimid skupiny. Chránicími skupinami přítomnými v chráněné hydroxymethylové skupině ve významu symbolu R^{10} nebo v chrá-

něné hydroxyalkylové skupině s 1 až 4 atomy uhlíku mohou být libovolné obvyklé chránicí skupiny hydroxylové funkce, například aralkoxykarbonylová skupina (například skupina benzyloxykarbonylová), nižší alkanoylová skupina (například skupina acetylová nebo propionylová), aroylová skupina (například skupina benzoxylová), nižší alkylová skupina (například skupina terc.-butylová) nebo nižší aralkylová skupina (například skupina benzylová).

Kondenzaci sloučeniny obecného vzorce II s chráněnou α -aminokyselinou obecného vzorce III podle vynálezu je možno uskutečnit známými metodami běžně používanými v chemii peptidů, například metodou smíšeného anhydridu, azidovou metodou, metodou aktivovaného esteru, metodou chloridu kyseliny, karbodiimidovou metodou nebo metodou za použití 1-ethoxykarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolinu (EEDQ-metoda).

Tak je možno sloučeninu obecného vzorce II kondenzovat s chráněnou α -aminokyselinou obecného vzorce III, v níž je karboxylová skupina ve formě smíšeného anhydridu (vzniklého tvorbou anhydridu s organickou nebo anorganickou kyselinou). Chráněnou kyselinu obecného vzorce III je možno podrobit reakci s terciární bází, jako s tri-(nižším)alkylaminem, například triethylaminem, nebo N-ethylmorpholinem, v inertním rozpouštědle (například v tetrahydrofuranu, 1,2-dimethoxyethanu, dichlormethanu, toluenu nebo petroletheru) a na takto získanou sůl pak působit vhodným chlorformiátem, například (nižším)alkylchlorformiátem, jako ethylchlorformiátem nebo isobutylchlorformiátem, při nižší teplotě. Takto získaný smíšený anhydrid se pak s výhodou in situ podrobuje reakci se sloučeninou obecného vzorce II.

Podle další z výše zmíněných metod je možno sloučeninu obecného vzorce II kondenzovat s chráněnou α -aminokyselinou obecného vzorce III, v níž je karboxylová skupina přítomna ve formě azidu kyseliny. Tato kondenzace se s výhodou provádí při nižší teplotě v inertním organickém rozpouštědle, jako v dimethylformamidu nebo ethylacetátu.

Podle další metody je možno sloučeninu obecného vzorce II kondenzovat s chráněnou α -aminokyselinou obecného vzorce III, jejíž karboxylová skupina je ve formě seskupení aktivovaného esteru, například ve formě 4-nitrofenyl-, 2,4,5-trichlorfenyl- nebo N-hydroxysukcinimid esteru. Tato kondenzace se s výhodou uskutečňuje v inertním rozpouštědle, jako ve vodném dimethylformamidu, nebo, znamenají-li R^3 a R^4 ve sloučenině obecného vzorce II nižší alkylové skupiny, také v nižším alkanolu, jako ve vodném ethanolu.

Sloučeninu obecného vzorce II je možno rovněž kondenzovat s chráněnou α -aminokyselinou obecného vzorce III, jejíž karboxylová skupina je ve formě seskupení chlo-

ridu kyseliny. V tomto případě se kondenzace s výhodou provádí v přítomnosti báze a při nižší teplotě.

Kondenzaci sloučeniny obecného vzorce II s chráněnou α -aminokyselinou obecného vzorce III je možno provádět rovněž v přítomnosti karbodiimidu (například dicyklohexylkarbodiimidu) nebo 1-ethoxykarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolinu. Tuto kondenzaci je možno uskutečnit v inertním organickém rozpouštědle (například v methylenchloridu nebo nižším alkanolu, jako methanolu nebo ethanolu) při teplotě místnosti nebo při teplotě nižší.

Chránicí skupinu (nebo skupiny) z produktu kondenzace je možno odštěpovat známým způsobem, tj. metodami, které se buď v praxi běžně používají, nebo které jsou popsány v literatuře. Tak například aralkoxykarbonylovou skupinu (například skupinu benzyloxykarbonylovou), *tert*.butoxykarbonylovou skupinu nebo 2-(bifenyl)isopropoxykarbonylovou skupinu je možno odštěpit hydrolýzou, například působením bromovodíku v kyselině octové. Aralkoxykarbonylovou skupinu (jako skupinu benzyloxykarbonylovou) lze odštěpit rovněž hydrogenolýzou, například v přítomnosti paládia na uhlí nebo kysličníku platičitého; *tert*.butoxykarbonylovou nebo 2-(bifenyl)isopropoxykarbonylovou skupinu lze rovněž odštěpit za použití kyseliny chlorovodíkové v dioxanu. Třitylovou skupinu je možno odštěpit například působením zředěné kyseliny octové.

Etalimidoskupinu je možno hydrazinolýzou převést na aminoskupinu. Nižší alkylové chránicí skupiny, jaké jsou mj. definovány u významu symbolů R^3 a R^4 , je možno odštěpit působením bromovodíku v ledové kyselině octové nebo působením trimethylchlorsilanu nebo trimethylbromsilanu s následující hydrolýzou vodou. Je pochopitelné, že v případě přítomnosti více než jedné chránicí skupiny je možno odštěpení chránicích skupin, v závislosti na charakteru těchto skupin, uskutečnit v jediném reakčním stupni nebo v několika reakčních stupních. S výhodou se ovšem používají takové chránicí skupiny, které je možno odštěpit v jediném stupni.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou amfoterní a proto tvoří farmaceuticky upotřebitelné soli jak s farmaceuticky upotřebitelnými silnými kyselinami (například s kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou nebo *p*-toluensulfonovou), tak bázemi (například s hydroxidem sodným nebo draselným).

Výchozí látky obecných vzorců II a III jsou známé sloučeniny nebo je lze připravit metodami analogickými metodám používaným pro přípravu známých sloučenin.

Fosfonové kyseliny obecného vzorce I podle vynálezu, které je možno rovněž nazvat jako peptidické deriváty, jsou antibakteriálně účinné proti široké paletě gram-pozitivních a gram-negativních bakterií, jako jsou *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

Serratia marcescens, *Klebsiella aerogenes*, *Streptococcus faecalis*, *Haemophilus influenzae*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Shigella sonnei*. Kromě toho potencují peptidické deriváty podle vynálezu aktivitu antibiotik, včetně antibiotik penicilinového a cefalosporinového typu; a D-cykloserinu. Jako antibiotika, která je možno potencovat peptidickými deriváty podle vynálezu, lze uvést následující antibiotika:

amoxycilin, cefadrin, cefalotin, cefalexin, carbenicilin, ampicilin, penicilin G, sulbenicilin, cefazolin, cefoxitin, rifampicin, [(R)-1-(2-furoyloxy)-3-methylbutyl]penicilin, (6R)-6-[(/hexahydro-1H-azepin-1-yl)methylen]-amino]penicilanovou kyselinu, (pivaloyloxy)methyl-(6R)-6-[(/hexahydro-1H-azepin-1-yl)methylen]amino]penicilánát, cefamandol, cefaloridin, cefaloglycin, fenethicilin, methicilin, propicilin, ticaracilin, arginino-vou sůl amoxycilinu, fosfonomycin, vancomycin a kanamycin.

Vynález popisuje rovněž farmaceutické preparáty, které obsahují spolu s farmaceuticky upotřebitelným nosným materiálem peptidický derivát podle vynálezu a popřípadě rovněž nějaké další antibiotikum.

Jako nosný materiál přichází v úvahu kterýkoli pevný nebo kapalný nosný materiál kompatibilní s peptidickými deriváty podle vynálezu a popřípadě s přítomnými antibiotiky a vhodný pro terapeutickou aplikaci. Nosným materiálem může být organický nebo anorganický materiál vhodný pro enterální (například orální) nebo parenterální podání. Jako příklady takovýchto nosných materiálů je možno uvést vodu, želatinu, laktózu, škrob, stearat hořečnatý, mastek, rostlinné oleje, arabskou gumu, polyalkylen-glykoly apod. Farmaceutické preparáty mohou být v pevné formě (například ve formě tablet, dražé, čípků nebo kapslí) nebo v kapalné formě (například ve formě roztoků, suspenzí nebo emulzí). Zmíněné preparáty je možno podrobovat standardním farmaceutickým operacím, jako sterilizací, a je k nim možno přidávat přídavné látky, jako konzervační činidla, stabilizátory, smáčedla nebo emulgátory, soli k měnění osmotického tlaku nebo pufru. Při použití pufru se může pH farmaceutického preparátu přirozeně upravovat v rozmezí známém z farmaceutické praxe.

Pokud farmaceutický preparát podle vynálezu obsahuje peptidický derivát podle vynálezu a antibiotikum, může se hmotnostní poměr peptidického derivátu k antibiotiku pohybovat v širokých mezích. Obecně leží tento hmotnostní poměr v rozmezí 1 : 100 až 100 : 1. Výhodně jsou hmotnostní poměry 1 : 64 až 64 : 1, zejména pak 1 : 16 až 16 : 1.

Denní dávka peptidického derivátu podle vynálezu, aplikovaného buď samostatně, nebo v kombinaci s antibiotikem, se může pohybovat v širokých mezích, v závislosti na

různých faktorech, jako na použitém peptidickém derivátu, popřípadě antibiotiku, na způsobu podání a na léčené infekci. Pokud se používá například samotný peptidický derivát, může činit denní dávka při orálním podání až cca do 2000 až 4000 mg a při parenterálním podání až do cca 800 až 2000 mg. Aplikuje-li se peptidický derivát podle vynálezu v kombinaci s antibiotikem, může se denní dávka pohybovat při orálním podání až do cca 750 až 1500 mg kombinace peptidického derivátu s antibiotikem a při parenterálním podání až do cca 200 až 2000 mg shora zmíněné kombinace. Je pochopitelné, že tyto denní dávky je možno podávat buď jednorázově, nebo v několika dílčích dávkách, a že zvolené dávkování se může pohybovat jak nad, tak pod shora uvedeným rozmezím, a to podle individuálních potřeb a v závislosti na zvláštnostech té které praktické situace. Zvážení všech těchto okolností a určení vhodné dávky je věcí ošetřujícího lékaře.

Vynález ilustrují dále příklady provedení, jimiž se však rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

Příklad 1

1.1 Příprava výchozí látky

5,0 g (48 mmol) L- α -aminomáselné kyseliny se rozpustí ve 24 ml 2 N hydroxidu sodného, roztok se ochladí na 0 °C a za míchání se k němu během 0,5 hodiny střídavě po částech přidává 12,3 g (72 mmol) benzylchlorformiátu a 18 ml (72 mmol) 4 N hydroxidu sodného tak, aby teplota nepřestoupila 10 °C a pH se udrželo zhruba na hodnotě 11. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti, přes noc se míchá a extrahuje se 50 ml diethyletheru. Organická fáze se oddělí od vodné fáze a vodná fáze se okyslí 5 N kyselinou chlorovodíkovou na pH 2, přičemž vznikne olejovitá směs. Tato směs se extrahuje dvakrát vždy 75 ml diethyletheru, extrakty se vysuší síranem sodným a odpaří se. Získá se 9,6 g bezbarvého oleje, který se rozpustí v 10 ml ethylacetátu. K roztoku se přidá 100 ml petroletheru (teplota varu 40 až 60 °C) a vzniklý olejovitý roztok se nechá stát při teplotě 0 °C; vyloučená bílá krystalická sraženina se odfiltruje, promyje se petroletherem a vysuší se. Získá se 8,40 g (73 %) N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminomáselné kyseliny o teplotě tání 76 až 78 °C.

$$[\alpha]_D^{20} = -10,9^\circ;$$

$$[\alpha]_{365}^{20} = -20,3^\circ \text{ (c = 1 \% v ethanolu)}.$$

1.2 Způsob podle vynálezu

1.2.1 8,30 g (35 mmol) N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminomáselné kyseliny a 4,02 g (35 mmol) N-hydroxysukcinimidu se za míchání rozpustí ve 75 ml dioxanu. Roztok se ochladí na 0 °C a přidá se k němu 7,94 g (38,5 mmol) dicyklohexylkarbodiimidu.

Směs se 2 hodiny míchá při teplotě 0 °C a pak se při této teplotě nechá přes noc stát. Pevný vedlejší produkt se odfiltruje a filtrát se odpaří, čímž se získá N-hydroxysukcinimidester N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminomáselné kyseliny ve formě tuhé pryskyřice, která se bez čištění používá k další reakci.

1.2.2 4,38 g (35 mmol) (1R)-1-aminoethylfosfonové kyseliny se za míchání rozpustí ve směsi 40 ml vody, 7,07 g (70 mmol) triethylaminu a 40 ml dimethylformamidu. Roztok se ochladí na 0 °C a rychle se k němu přikape roztok 35 mmol N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminomáselné kyseliny ve 40 ml dimethylformamidu. Směs se míchá při teplotě 0 °C a pak se nechá za míchání přes noc chladit na teplotu místnosti. Malé množství pevné látky se odstraní filtrací a filtrát se odpaří ve vakuu olejové vývěvy. Zbytek se rozpustí ve směsi 30 ml methanolu a 10 ml vody, roztok se nanese na sloupec 150 g katexu (B. H. D., Zerolit 225, SRC 13, RSO₃H, čerstvě regenerovaný v kyselém cyklu) a sloupec se vymývá stejným rozpouštědlem. Kyselý eluát se shromáždí a odpaří se na mírně pryskyřičnatý bílý pevný zbytek. Tato pevná látka se rozetře se 100 ml diethyletheru, diethylether se oddekantuje, výsledný pevný materiál se rozpustí ve směsi 100 ml methanolu a 50 ml vody a roztok se titruje 4 N vodným benzylaminem (titr 8,0 ml; teorie 8,75 ml) na pH 4,5. Ke konci titrace směs ztuhne. Sraženina se odfiltruje, promyje se vodou a vysuší se, čímž se získá 8,84 g monobenzylaminové soli (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminobutyryl)amino]-ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 228 až 231 °C;

$$[\alpha]_D^{20} = -31,3^\circ;$$

$$[\alpha]_{565}^{20} = -105^\circ \text{ (c = 1 \% v ledové kyselině octové)}.$$

1.2.3 8,7 g (19,3 mmol) monobenzylaminové soli (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminobutyryl)amino]ethylfosfonové kyseliny se 6 hodin míchá při teplotě místnosti se směsí 20 ml 45% bromovodíku v ledové kyselině octové a 8 ml ledové kyseliny octové. Po přidání 100 ml etheru se vyloučí pryskyřičnatá sraženina, která se promyje dekantací se 100 ml etheru a pak se rozpustí ve 100 ml methanolu. Roztok se promíchá a pak se k němu přidají 2 dávky po 5 ml propylenoxidu (pH cca 5), čímž se vyloučí bílá sraženina. Směs se nechá přes noc stát, sraženina se odfiltruje, promyje se methanolem a diethyletherem a vysuší se. Získá se 4,05 g surové (1R)-1-(L- α -aminobutyryl)amino]ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 298 °C. Po překrystalování ze směsi 750 ml vody a 1500 ml ethanolu se získá bílá krystalická sraženina, která se promyje nejprve ethanolem a pak diethyletherem a na konec se vysuší ve vakuu. Získá se 3,58 g (88 %) (1R)-1-(L- α -aminobutyrylami-

no)ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 296 až 298 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -33,1^\circ$;

$[\alpha]_{365}^{20} = -145^\circ$ ($c = 1\%$ v čerstvě připraveném 1 N hydroxidu sodném).

Příklad 2

2.1 Příprava výchozí látky

Analogickým postupem jako v příkladu 1.1 se na 5,0 g (42,5 mmolů) L-norvalinu působí 10,2 g (60 mmolů) benzylchlorformiátu a hydroxidem sodným, Surový olejovitý produkt se překrystaluje ze směsi 10 ml diethyletheru a 20 ml petroletheru (teplota varu 40 až 60 °C). Získá se 8,2 g (77 %) N-benzyloxykarbonyl-L-norvalinu o teplotě tání 85 až 87 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -9,9^\circ$;

$[\alpha]_{365}^{20} = -26,5^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

2.2 Způsob podle vynálezu

2.2.1 Postupem popsaným v příkladu 1.2.1 se z 8,1 g (32 mmolů) N-benzyloxykarbonyl-L-norvalinu, 3,68 g (32 mmolů) N-hydroxysukcinimidu a 7,21 g (35 mmolů) dicyklohexylkarbodiimidu po tritraci olejovitého produktu s 25 ml ethanolu získá bílý krystalický produkt, který po přidání 25 ml petroletheru (teplota varu 40 až 60 °C) a filtraci poskytne 9,82 g N-hydroxysukcinimidester N-benzyloxykarbonyl-L-norvalinu, který se přímo používá v následujícím reakčním stupni. Vyčištěný vzorek produktu taje při 95 až 97 °C a má optickou rotaci

$[\alpha]_D^{20} = -35,1^\circ$ ($c = 1\%$ v ethanolu).

2.2.2 Analogickým postupem jako v příkladu 1.2.2 se z 9,82 g (28 mmolů) N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl-L-norvalinu a 3,75 g (30 mmolů) (1R)-1-aminoethylfosfonové kyseliny (s tím, že se tritrací namísto diethyletheru použije směs 150 ml methanolu a 30 ml vody) získá 7,61 g monobenzylaminové soli (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl-L-norvalyl)amino]ethylfosfonové kyseliny tající za rozkladu při 225 až 230 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -29,9^\circ$;

$[\alpha]_{365}^{20} = -98,8^\circ$ ($c = 1\%$ v kyselině octové).

Po odpaření filtrátu, rozmíchání zbytku se 100 ml teplé vody, filtrací, promytí ethanolem a pak diethyletherem se získá druhý podíl (1,99 g) monobenzylaminové soli (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl-L-norvalyl)amino]ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 231 až 234 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -29,7^\circ$;

$[\alpha]_{365}^{20} = -99,0^\circ$ ($c = 1\%$ v kyselině octové). Celkový výtěžek produktu činí 9,60 gramu (73 %).

2.2.3 Postupem popsaným v příkladu 1.2.3 se z 9,0 g (19 mmolů) monobenzylaminové

soli (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl-L-norvalyl)amino]ethylfosfonové kyseliny po krystalizaci ze směsi 80 ml vody a 160 ml ethanolu získá 3,54 g (82 %) (1R)-1-(L-norvalylamino)ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 260 až 262 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -19,5^\circ$;

$[\alpha]_{365}^{20} = -75,3^\circ$ ($c = 1\%$ ve vodě).

Příklad 3

3.1 Příprava výchozí látky

Postupem popsaným v příkladu 1.1 se nechá reagovat 5,0 g (38 mmolů) L-norleucinu s 9,7 g (57 mmolů) benzylchlorformiátu a hydroxidem sodným. Vzniklý N-benzyloxykarbonyl-L-norleucin se izoluje ve formě oleje, který se bez krystalizace používá v dalším reakčním stupni.

3.2 Způsob podle vynálezu

3.2.1 Postupem popsaným v příkladu 1.2.1 se z cca 38 mmolů N-benzyloxykarbonyl-L-norleucinu, 4,38 g (38 mmolů) N-hydroxysukcinimidu a 8,65 g (42 mmolů) dicyklohexylkarbodiimidu získá po zpracování surového olejovitého produktu 100 ml diethyletheru 7,47 g N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl-L-norleucinu ve formě krystalické pevné látky o teplotě tání 82 až 84 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -20,7^\circ$ ($c = 1\%$ v acetonu).

3.2.2 Postupem popsaným v příkladu 1.2.2 (s tím, že se chromatografie na iontoměničích namísto ve směsi methanolu a vody v poměru 3 : 1 provádí ve směsi methanolu a vody v poměru 5 : 1) se z 7,40 g (20,5 mmolů) N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl-L-norleucinu a 2,56 g (20,5 mmolů) (1R)-1-aminoethylfosfonové kyseliny získá po odpaření a tritraci surového produktu s etherem pevná látka, která po rozmíchání s teplou vodou, ochlazení a filtrací poskytne 5,64 g (74 %) (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl-L-norleucyl)amino]ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 192 až 194 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -37,8^\circ$;

$[\alpha]_{365}^{20} = -126,5^\circ$ ($c = 0,5\%$ v kyselině octové).

3.2.3 Postupem popsaným v příkladu 1.2.3 se z 5,20 g (14,0 mmolů) (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl-L-norleucyl)amino]ethylfosfonové kyseliny získá po krystalizaci ze směsi 70 ml vody a 280 ml ethanolu 3,02 g (91 procent) (1R)-1-(L-norleucylamino)ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 254 až 256 °C;

$[\alpha]_D^{20} = -18,6^\circ$;

$[\alpha]_{365}^{20} = -70,1^\circ$ ($c = 1\%$ ve vodě).

Příklad 4

4.1 Postupem popsaným v příkladech 1.2.2

a 2.2.2 (s tím, že titrace benzylaminem se provádí ve směsi 250 ml methanolu a 50 ml vody) se z 17,4 g (50 mmolů) N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl-L-norvalinu a 5,55 g (50 mmolů) aminomethylfosfonové kyseliny získá 17,3 g surové monobenzylaminové soli žádaného produktu, tající za rozkladu při 195 až 198 °C (1. podíl). Odpařením filtrátu a krystalizací zbytku ze směsi 80 ml methanolu a 20 ml vody se získá dalších 2,19 g podle chromatografie na tenké vrstvě prakticky čistého produktu (2. podíl) tajícího za rozkladu při 180 až 185 °C. Celkový výtěžek činí 19,5 g (86 %).

Po překrystalování 0,5 g produktu z 1. podílu z 10 ml teplé vody se získá 0,39 g čisté monobenzylaminové soli (N-benzyloxykarbonyl-L-norvalyl)aminomethylsulfonové kyseliny, tající za rozkladu při 203 až 205 °C;
 $[\alpha]_D^{20} = -8,2^\circ$,
 $[\alpha]_{365}^{20} = -21,3^\circ$ ($c = 0,5$ % v kyselině octové).

4.2 Postupem popsaným v příkladu 1.2.3 se z 18,9 g (42 mmolů) monobenzylaminové soli (N-benzyloxykarbonyl-L-norvalyl)aminomethylfosfonové kyseliny získá po krystalizaci ze směsi 80 ml vody a 160 ml ethanolu 6,65 g (75 %) L-(norvalylamino)methylfosfonové kyseliny o teplotě tání 273 až 275 °C;

$[\alpha]_D^{20} = +61,2^\circ$,
 $[\alpha]_{365}^{20} = +224^\circ$ ($c = 0,5$ % ve vodě).

Příklad 5

K roztoku 45,4 g (0,181 molu) N-benzyloxykarbonyl-L-norvalinu ve 200 ml methylenchloridu se za míchání přidá 31,76 g (0,181 molu) dimethylaminomethylfosfonát-hydrochloridu. Výsledná suspenze se ochladí na -12°C a přidá se k ní 23,3 ml (0,181 molu) suchého triethylaminu. Po skončení přidávání se studená směs ještě 15 minut míchá, načež se k ní rychle přidá 56,8 g (0,23 molu) 1-ethoxykarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolinu. Reakční směs se za chlazení míchá ještě 2 hodiny a pak se 48 hodin míchá při teplotě místnosti.

Výsledná směs se promyje nejprve 100 ml vody a pak čtyřikrát vždy 100 ml 1 N kyseliny chlorovodíkové. Spojené kyselé promývací kapaliny se extrahují dvakrát vždy 50 ml methylenchloridu, spojené organické roztoky se znovu promyjí 100 ml vody, potom třikrát vždy 100 ml 15% roztoku hydrogenuhličitanu draselného a na konec se vysuší bezvodým síranem sodným. Po filtraci se roztok odpaří a olejovitý zbytek se znovu odpaří s benzenem. Získá se finální olejovitý zbytek o hmotnosti 78,13 g.

Tento olejovitý zbytek se trituruje s etherem (200 ml), přičemž se v etheru rozpustí a velmi brzy poté dojde ke krystalizaci. Směs se nechá 1 hodinu stát za chladu, pak se pevný materiál odfiltruje, promyje se ethe-

rem a vysuší se ve vakuu do konstantní hmotnosti. Získá se 58,2 g produktu o teplotě tání 77 až 80 °C. Tento produkt se vyjme 200 ml teplého ethylacetátu, roztok se zfiltruje a k ochlazenému filtrátu se přidá 200 ml etheru. Směs se naočkuje a nechá se přes noc stát v chladnu. Pevný produkt se odfiltruje a po promytí etherem se vysuší ve vakuu. Získá se 50,64 g produktu o teplotě tání 82 až 84 °C.

37,2 g [(N-benzyloxykarbonyl-L-norvalyl)-amino]dimethylfosfonátu se 5 hodin míchá ve 120 ml 45% bromovodíku v kyselině octové. Zpočátku dochází k rychlému vývoji kysličníku uhličitého. Po přidání 500 ml etheru dojde k vyloučení olejovitého produktu. Směs se 40 minut míchá, pak se nechá v klidu stát, ether se oddekantuje a olejovitý produkt se promyje dvakrát vždy 500 ml etheru. Olejovitý materiál se pak vyjme 300 ml methanolu a roztok se za přidavku 40 ml propylenoxidu míchá. Po 5 minutách začne produkt z roztoku krystalovat. Hodnota pH směs se upraví na 4 a výsledná směs se nechá přes noc za chladu stát. Pevná látka se odfiltruje, důkladně se promyje methanolem a etherem a vysuší se ve vakuu. Získá se 20,13 g produktu tajícího za rozkladu při 288 až 289 °C. Tento produkt se vyjme 200 ml teplé vody, roztok se zfiltruje a k filtrátu se přidá 400 ml ethanolu. Stáním ze směsi začne krystalovat pevný produkt. Směs se nechá 2 hodiny stát za chladu, pevná látka se odfiltruje, promyje se nejprve ethanolem a pak etherem a vysuší se ve vakuu nad kysličníkem fosforečným. Získá se 16,66 g (L-norvalylamino)methylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 293 až 294 °C;

$[\alpha]_D^{20} = +62,7^\circ$ ($c = 0,5$ % ve vodě).

Příklad 6

6.1 Na 2,33 g (10 mmolů) L-nitrohomoargininu, tajícího za rozkladu při 227 až 230 °C Celsia, se postupem popsaným v příkladu 1.1 působí 3,41 g (20 mmolů) benzylchlorformiátu a hydroxidem sodným. Červený olejovitý produkt se z okyseleného roztoku extrahuje dvakrát vždy 100 ml ethylacetátu (namísto diethyletheru). Tento surový olejovitý produkt tvořený N-benzyloxykarbonyl- ω -nitro-L-homoargininem se po vysušení síranem sodným a odpaření získá ve formě pryskyřičnaté látky, která se bez čištění používá v následujícím reakčním stupni.

6.2 Postupem popsaným v příkladu 1.2.1 (ale za použití 20 ml dimethylformamidu jako rozpouštědla) se z cca 4,2 g (cca 10 mmolů) surového N-benzyloxykarbonyl- ω -nitro-L-homoargininu, 1,15 g (10 mmol) N-hydroxysukcinimidu a 2,27 g (11 mmol) dicyklohexylkarbodiimidu získá po odstranění 1,73 g dicyklohexylenu a odpaření filtrátu surový N-hydroxysukcinimidester-N-benzyloxykarbonyl- ω -nitro-L-homoargininu ve formě žlutého oleje, který se bez dalšího čiště-

ní používá v následujícím reakčním stupni.

6.3 Postupem popsaným v příkladu 1.2.2 se nechá reagovat cca 10 mmolů N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl- ω -nitro-L-homoargininu a 1,25 g (10 mmolů) (1R)-1-aminoethylfosfonové kyseliny (s tím, že se chromatografie na iontoměničce neprovádí za použití směsi methanolu a vody v poměru 3 : 1, ale za použití směsi methanolu a vody v poměru 5 : 1). Kyselý eluát se odpaří a zbytek se rozdělí mezi 300 ml vody a 150 ml ethylacetátu, přičemž se získá určité množství nerozpustného materiálu, který po odfiltrování a vysušení poskytne 1. podíl produktu o hmotnosti 1,36 g, tajícího za rozkladu při 190 až 193 °C.

Vrstvy filtrátu se rozdělí, vodná vrstva se odpaří k suchu a zbytek se trituruje s 50 ml acetonu, přičemž vznikne bílá sraženina. Tato sraženina se odfiltruje, promyje se acetonem a vysuší. Tímto způsobem se získá dalších 1,43 g (2. podíl) (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl- ω -nitro-L-homoarginyl)amino]ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 184 až 188 °C; 1. podíl a 2. podíl se bez dalšího čištění používají v následujícím reakčním stupni.

6.4 Postupem popsaným v příkladu 1.2.3 se z 2,7 g (cca 5,7 mmol) (1R)-1-[(N-benzyloxykarbonyl- ω -nitro-L-homoarginyl)amino]ethylfosfonové kyseliny získá po krystalizaci ze směsi 15 ml vody a 150 ml ethanolu 1,23 g (1R)-1-(L- ω -nitrohomoarginylamino)ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při cca 190 °C;

$$[\alpha]_D^{20} = 11,2^\circ,$$

$[\alpha]_{365}^{20} = 43,2^\circ$ (c = 0,51 % ve vodě). Celkový výtěžek činí 1,37 g (71 %).

6.5 1,2 g (3,5 mmol) (1R)-1-(L- ω -nitrohomoarginylamino)ethylfosfonové kyseliny se vnese do 50 ml vody, přidá se 0,35 g 10% paládia na uhlí a směs se hydrogenuje při teplotě místnosti za tlaku až do ukončení spotřeby vodíku (cca 5 hodin). Katalyzátor se odstraní filtrací, filtrát se odpaří, pryskyřičnatý zbytek se rozpustí v 15 ml studené vody, roztok se zfiltruje a přidá se k němu 120 ml ethanolu. Po 1 hodině se vyloučená sraženina odfiltruje, čímž se získá 0,76 g (1R)-1-(L-homoarginylamino)ethylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při cca 195 °C;

$$[\alpha]_D^{20} = -11,9^\circ$$
 (c = 0,5 % ve vodě).

Příklad 7

7.1 Postupem popsaným v příkladu 1.2.2 se z roztoku 45 mmolů N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminomáselné kyseliny ve 40 ml dimethylformamidu a 4,44 g (40 mmolů) aminomethylfosfonové kyseliny (za použití směsi methanolu a vody v poměru 4 : 1 namísto 2 : 1) získá 14,1 g monobenzylaminové soli [(N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminobutyryl)amino]methylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 185 až 195 °C. Odpařením filtrátu a překrystallováním zbytku ze směsi 50 ml vody a 50 ml methanolu se získá dalších 1,6 g produktu

ve formě bílé krystalické sraženiny, tající za rozkladu při 205 až 208 °C;

$$[\alpha]_D^{20} = -6,1^\circ,$$

$[\alpha]_{365}^{20} = -21,1^\circ$ (c = 0,51 % v kyselině octové).

7.2 Postupem popsaným v příkladu 1.2.3 se z 15,6 g (cca 36 mmolů) monobenzylaminové soli [(N-benzyloxykarbonyl-L- α -aminobutyryl)amino]methylfosfonové kyseliny získá 5,92 g surového produktu, tajícího za rozkladu při 253 až 255 °C. Po překrystallování ze směsi 60 ml vody a 120 ml ethanolu se získá 4,93 g (L- α -aminobutyrylamino)methylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 263 až 265 °C;

$$[\alpha]_D^{20} = +57,0^\circ,$$

$$[\alpha]_{365}^{20} = +212^\circ$$
 (c = 0,51 % ve vodě).

Příklad 8

8.1 Postupem popsaným v příkladu 3.2.2 se z 2,52 g (7 mmolů) N-hydroxysukcinimidesteru N-benzyloxykarbonyl-L-norleucinu a 0,78 g (7 mmolů) aminomethylfosfonové kyseliny získá po rozmíchání se 100 ml acetonu 0,56 g monobenzylaminové soli [(N-benzyloxykarbonyl-L-norleucyl)amino]methylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 185 až 189 °C. Při tomto postupu se chromatografie na iontoměničce provádí za použití směsi methanolu a vody v poměru 2 : 1 (namísto 5 : 1) a kyselý eluát se přímo titruje benzylaminem (neprovádí se tedy odpaření, zpracování etherem a nové rozpouštění ve směsi methanolu a vody).

Odpařením filtrátu a triturací zbytku s 50 ml diethyletheru se získá dalších 1,9 g produktu, tajícího za rozkladu při 170 až 180 °C.

8.2 Postupem popsaným v příkladu 1.2.3 se z 2,40 g (cca 5,2 mmol) monobenzylaminové soli [(N-benzyloxykarbonyl-L-norleucyl)amino]methylfosfonové kyseliny získá 1,04 g surového produktu, tajícího za rozkladu při 263 až 266 °C. Po překrystallování ze směsi 20 ml vody a 120 ml ethanolu se získá 0,88 g (L-norleucylamino)methylfosfonové kyseliny, tající za rozkladu při 272 až 274 °C;

$$[\alpha]_D^{20} = +63,4^\circ,$$

$$[\alpha]_{365}^{20} = +231^\circ$$
 (c = 0,5 % ve vodě).

Další příklad ilustruje typický farmaceutický preparát.

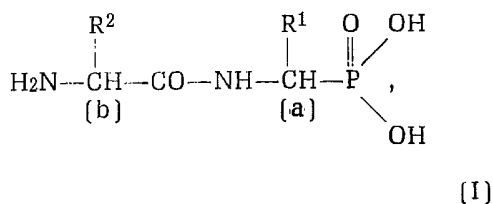
Příklad A

Prostředek k parenterálnímu podání je možno připravit z těchto složek:

Složka	Dávka na 1000 ml
peptidický derivát	
obecného vzorce I	50,0 g
chlorkresol	1,0 g
ledová kyselina octová	1,2 g
0,1 N roztok hydroxidu sodného do pH	4,5
voda pro injekce	
doplnit do	1000 ml

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby fosfonových kyselin obecného vzorce I

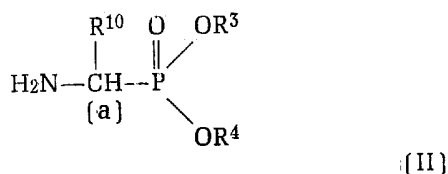


ve kterém

R¹ znamená atom vodíku, methylovou skupinu, hydroxymethylovou skupinu nebo mono-, di- nebo trihalogenmethylovou skupinu,

R² představuje alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, hydroxyalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo guanidinoalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, s výjimkou skupin tohoto typu vyskytujících se normálně v proteinech,

s R-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (a) v případě, že R¹ neznámá atom vodíku, a s L-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (b), a jejich farmaceuticky upotřebitelných solí, vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce II,

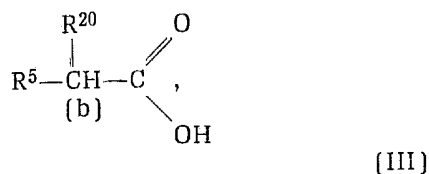


ve kterém

R¹⁰ buď má stejný význam jako R¹ v obecném vzorci I, nebo znamená chráněnou hydroxymethylovou skupinu a

každý ze symbolů R³ a R⁴ představuje atom vodíku nebo methylovou skupinu,

s R-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (a) v případě, že R¹⁰ má jiný význam než atom vodíku, kondenzuje s chráněnou α-aminokyselinou obecného vzorce III,



ve kterém

R²⁰ buď má stejný význam jako R² v obecném vzorci I, nebo znamená chráněnou hydroxyalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, popřípadě chráněnou guanidinoalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části,

R⁵ představuje chráněnou aminoskupinu, s L-konfigurací na uhlíkovém atomu označeném (b), z produktu kondenzace se odštěpí přítomné chránicí skupiny a výsledný produkt se popřípadě převede na farmaceuticky upotřebitelnou sůl.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky použijí sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce II, ve kterém jednotlivé obecné symboly mají shora uvedený význam, a sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce III, ve kterém R²⁰ znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo hydroxyalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, s výjimkou skupin tohoto typu vyskytujících se normálně v proteinech, nebo znamená chráněnou hydroxyalkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, a zbývající obecné symboly mají shora uvedený význam.

3. Způsob podle bodu 1 nebo 2, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky použijí sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce II, ve kterém R¹⁰ znamená atom vodíku nebo methylovou skupinu a zbývající obecné symboly mají shora uvedený význam, a sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce III, ve kterém jednotlivé obecné symboly mají shora uvedený význam.

4. Způsob podle bodu 3, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky použijí sloučeniny shora uvedených obecných vzorců II a III, v nichž R²⁰ znamená ethylovou, n-propylovou nebo n-butylovou skupinu a zbývající obecné symboly mají shora uvedený význam.