

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 17.12.2001
(32) Datum podání prioritní přihlášky: 21.12.2000
(31) Číslo prioritní přihlášky: 2000/0031179
(33) Země priority: GB
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 14.01.2004
(Věstník č. 1/2004)
(86) PCT číslo: PCT/GB01/05596
(87) PCT číslo zveřejnění: WO02/050021

(21) Číslo dokumentu:

2003 - 1744

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 C 323/58
A 61 K 31/198
A 61 P 29/00
A 61 P 37/00
A 61 P 3/06
A 61 P 25/06

(71) Přihlašovatel:

GLAXO GROUP LIMITED, Greenford, GB;

(72) Původce:

Box David, Stevenage, GB;
Colclough David, Dartford, GB;
Gillies Iain, Waterlooville, GB;
Loft Michael Simon, Dartford, GB;
Moore Rebecca, Dartford, GB;

(74) Zástupce:

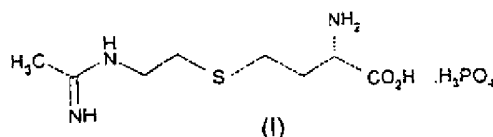
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Inhibitor syntetázy NO

(57) Anotace:

Sloučenina vzorce I s názvem kyselina (2S)-2-amino-4-{[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-thio}-butanová, sloučenina s kyselinou fosforečnou nebo její solvát nebo fyziologicky funkční derivát je vhodná jako relativně nehydroskopický, selektivní inhibitor syntetázy oxidu dusnatého. Sloučeniny se používají při profylaxi a léčbě klinických stavů, při nichž se indikuje inhibitor syntetázy NO, zvláště inhibitor iNOS. Tyto stavy zahrnují zánětlivé stavy, šokové stavy, poruchy imunity a poruchy gastrointestinální motility. Sloučeniny vzorce I lze také použít pro profylaxi a léčbě onemocnění centrálního nervového systému, zahrnující migrénu a metabolické poruchy, včetně dyslipidemie.



Inhibitor syntetázy NO

Oblast techniky

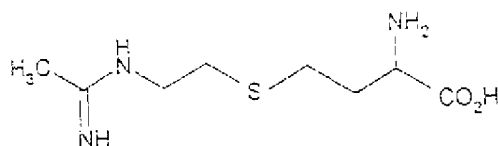
Předkládaný vynález se týká nových amidinových sloučenin, způsobu jejich výroby, farmaceutického prostředku s obsahem těchto sloučenin, a jejich použití při léčbě, zvláště jejich použití jako selektivní inhibitory syntetázy oxidu dusnatého.

Dosavadní stav techniky

Oxid dusnatý je endogenní stimulátor rozpustného enzymu guanylatcyklázy a zasahuje do velkého množství biologických účinků. Předpokládá se, že nadbytečná produkce oxidu dusnatého způsobuje mnoho stavů, zahrnující septický šok a mnoho zánětlivých onemocnění. Biochemická syntéza oxidu dusnatého z L-argininu se katalyzuje enzymem syntetázou NO. Mnoho inhibitorů syntetázy NO bylo popsáno a použito pro terapeutické účely.

V poslední době existují v této oblasti inhibitory syntetázy NO, které se mají selektivitu buď na indukovatelnou syntetázu NO (iNOS) nebo neuronovou syntetázu NO (nNOS) přes endotelovou syntetázu NO (eNOS).

Proto WO98/30537 popisuje selektivní inhibitory syntetázy NO podle vzorce



nebo jejich sůl, solvát nebo fyziologicky funkční derivát.

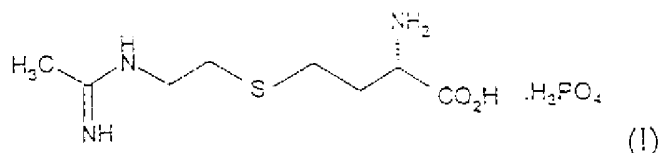
Vhodné soli podle WO98/30537 zahrnují soli, vytvořené s anorganickými nebo organickými kyselinami nebo bazemi. Farmaceuticky přijatelné adiční soli s kyselinami zahrnují soli, vytvořené z kyseliny chlorovodíkové, bromovodíkové, sirové, citronové, vinné, fosforečné, mléčné, pyrohroznové, octové, trifluorooctové, jantarové, oxalové, fumarové, maleinové, oxaloctové, methansulfonové, ethansulfonové, p-toluensulfonové, benzensulfonové a isethionové. Farmaceuticky přijatelné soli bazí zahrnují amoniové soli, soli alkalických kovů, jako je sodík a draslík, soli kovů alkalických zemin, jako je vápník a hořčík, a soli s organickými bazemi, jako je dicyklohexylamin a N-methyl-D-glukamin. Hydrochloridové soli jsou doloženy příklady a jsou hydroskopické.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález poskytuje selektivní inhibitor iNOS, který se považuje za méně hydroskopický než jsou například hydrochloridové soli, uvedené v WO98/30537.

Zjistilo se nyní, že sloučeniny, spadající do oblasti WO98/30537, jsou selektivní inhibitory iNOS a jsou výhodné tím, že nejsou relativně hydroskopické. Sloučeniny, které nejsou relativně hydroskopické jsou vhodné, protože neabsorbují vlhkost z atmosféry a lze je proto lépe izolovat, formulovat a používat.

Předmět předkládaného vynálezu se proto týká sloučeniny podle vzorce (I)



nebo jejího solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu.

Předkládaný vynález proto týká kyseliny (2S)-2-amino-4-{[2-(ethanimido-ylamino)-ethyl]-thio}-butanové, sloučeniny s kyselinou fosforečnou nebo jejího solvátu (výhodně hydrátu) nebo fyziologicky funkčního derivátu. Předkládaný vynález zahrnuje všechny polymorfy této sloučeniny. Výhodně je každá molekula sloučeniny vzorce (I) spojena s alespoň jednou molekulou vody, jako je 1, 2 nebo 3 molekuly vody, zvláště 1 nebo 3 molekuly vody. Ve zvláště výhodném aspektu se předkládaný vynález týká kyseliny (2S)-2-amino-4-{[2-(ethanimido-ylamino)-ethyl]-thio}-butanové, sloučeniny s kyselinou fosforečnou, (1:1) hydrátu.

Odborníkovi v oboru je zřejmé, že kyselina fosforečná existuje ve více než jedné formě. Výhodnou formou pro použití v souvislosti s předkládaným vynálezem je kyselina ortofosforečná.

S výhodou sloučenina vzorce (I) v podstatě nevlhne (neabsorbuje atmosférickou vlhkost) pod relativní vlhkostí 60 % při teplotě 25 °C. Výhodněji sloučenina vzorce (I) v podstatě nevlhne pod relativní vlhkostí 70 % při teplotě 25 °C.

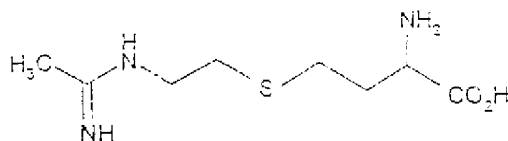
Výhodně u sloučeniny vzorce (I) nedochází ke změně hmotnosti při adsorpci více než 5 % hmotn./hmotn. při relativní vlhkosti 70 % při teplotě 25 °C. Výhodněji u sloučeniny vzorce (I) nedochází ke změně hmotnosti při adsorpci více než 2 % hmotn./hmotn. při relativní vlhkosti 70 % při teplotě 25 °C. Nejvýhodněji u sloučeniny vzorce (I) nedochází ke změně hmotnosti při adsorpci více než 1 % hmotn./hmotn. při relativní vlhkosti 70 % při teplotě 25 °C.

Solváty sloučeniny vzorce (I), které jsou vhodné pro použití v medicíně, jsou solváty, v nichž je obsažené rozpouštědlo farmaceuticky přijatelné. Avšak solváty, které obsahují farmaceuticky nepřijatelná rozpouštědla, jsou součástí oblasti předkládaného vynálezu, například se používají jako meziprodukty při výrobě sloučeniny vzorce (I) a jejich solvátů a fyziologicky funkčních derivátů.

Pojem „fyziologicky funkční derivát“ znamená chemický derivát sloučeniny vzorce (I), který má stejnou fyziologickou funkci jako sloučenina vzorce (I), například, že je navíc konvertibilní v těle. Podle předkládaného vynálezu zahrnují příklady fyziologicky funkčních derivátů estery, amidy a karbamáty; výhodně estery a amidy.

Farmaceuticky přijatelné estery a amidy sloučeniny vzorce (I) mohou mít kyselinovou skupinu převedenou na skupinu C₁₋₆ -alkyl, aryl, aryl-C₁₋₆ -alkyl nebo aminokyselinový ester nebo amid. Farmaceuticky přijatelné amidy a karbamáty sloučeniny vzorce (I) mohou mít skupinu amino převedenou na skupinu C₁₋₆ -alkyl, aryl, aryl-C₁₋₆ -alkyl nebo amid aminokyseliny nebo karbamát.

Jak je uvedeno výše, sloučenina vzorce (I) je inhibitorem syntetázy NO. WO98/30537 to uvádí obecně pro sloučeniny následujícího vzorce



nebo jejich sůl, solvát nebo fyziologicky funkční derivát: fosfátové soli se neuvádí jako příklad.

Sloučenina vzorce (I) a její farmaceuticky přijatelné solváty a fyziologicky funkční deriváty se používají při profylaxi a léčbě klinických stavů, při nichž se indikuje inhibitor syntetázy NO, zvláště inhibitor iNOS. Tyto stavy zahrnují zánětlivé stavy, šokové stavy, poruchy imunity a poruchy gastrointestinální motility. Sloučenina vzorce (I) a její farmaceutické solváty a fyziologicky funkční deriváty se mohou také použít při profylaxi a léčbě onemocnění centrálního nervového systému, zahrnující migrénu a metabolické poruchy, včetně dyslipidemie.

Šokové stavy jsou výsledkem nadprodukce NO, jako je septický šok, šok při krvácení nebo šok, způsobený náhlým selháním jater nebo při léčbě cytokiny, jako je TNF, IL-1 a IL-2, nebo léčbě činidly s obsahem cytokinů, například kyselina 5,6-dimethylxanthenonoctové.

Příklady zánětlivých stavů a poruch imunity zahrnují stavy a poruchy kloubu, zvláště artritidu (například reumatoidní artritida, osteoartritida, protézové selhání kloubu) nebo gastrointestinálního traktu (například ulcerativní kolitida, Crohnova nemoc a jiná zánětlivá onemocnění střev, gastritida a mukózní zánět způsobený infekcí, enteropatie vyvolaná nesteroidními protizánětlivými léky), dýchacích cest (například syndrom bolesti při dýchání u dospělých, astma, cystická fibróza, zánětlivé onemocnění horních cest dýchacích

(například rhinitida, jako je alergická rhinitida) nebo chronické obstruktivní plicní onemocnění), nervové tkáně (například roztroušená skleróza), slinivky břišní (například cukrovka a její komplikace), ledvin (například glomerulonefritida), kůže (například dermatitida, lupénka, ekzém, kopřivka), očí (například glaukom) a také trasplantovaných orgánů (například nepřijetí) a víceorgánová onemocnění (například systemický lupus erythematóza) a záněty následně po virové nebo bakteriální infekci.

Dále vzniká nadprodukce NO způsobená iNOS při ateroskleóze a po hypoxickém nebo ischemickém napadení (s nebo bez reperfuze), například v mozku nebo při ischemické chorobě srdeční.

Poruchy gastrointestinální motility zahrnují střevní neprůchodnost, například pooperační neprůchodnost střev a neprůchodnost střev při sepsi.

Onemocnění centrálního nervového systému znamená onemocnění, při nichž nadprodukce NO zahrnuje například migrénu, psychózy, úzkosti, schizofrenii, poruchy spánku, cerebrální ischemii, trauma CNS, epilepsii, roztroušenou sklerózu, demenci následkem AIDS, chronické neurodegenerativní onemocnění (například demence Lewy Body, Huntingtonova nemoc, Parkinsonova nemoc nebo Alzheimerova nemoc) a akutní a chronická bolest a stavy, které mohou zahrnovat neadrenergní necholinergní nerv, jako je priapismus, obezita a hyperfagie (přejídání).

Příklady akutní bolesti zahrnují bolest kosterního svalstva, pooperační bolest a chirurgická bolest. Příklady chronické bolesti zahrnují chronickou zánětlivou bolest (například reumatoidní artritidu a osteoartritidu), neuropathickou bolest (například nervová bolest s pásovým oparem, diabetická neuropathie spojená s cukrovkou, nervová bolest trojklanného nervu, bolest spojená s funkčním onemocněním střev, například syndrom podráždění střev, nesrdeční

bolest hrudníku a bolest udržovaná nervovým systémem) a bolest spojená s rakovinou a fibromyalgií.

Nadprodukce NO se zahrnuje do metabolických poruch svým účinkem na aktivitu lipoproteinové lipázy, způsobující hypertriglyceridemii. Selektivní inhibitory iNOS budou vhodné pro metabolické stavy, které zahrnují nadprodukcí NO, jako je dyslipidemie.

Dále může být inhibice syntetázy NO výhodná pro prevenci ztráty lymfocytů, spojené s infekcí HIV, pro zvýšení radiosenzitivity nádorů během radioterapie a pro snížení růstu tumoru, tumorové progresi, angiogeneze a metastáze.

Podle toho se předkládaný vynález týká způsobu profylaxe nebo léčby klinického stavu u savců, jako je člověk, u něhož se indikuje inhibitor syntetázy oxidu dusnatého, například inhibitor iNOS, který zahrnuje podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny vzorce (I) nebo jejího farmaceuticky přijatelného solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu. Zvláště se předkládaný vynález týká způsobu profylaxe nebo léčby zánětlivého a/nebo imunitního onemocnění, jako je artritida, alergická rhinitida nebo astma. V dalším výhodném aspektu se předkládaný vynález týká způsobu profylaxe nebo léčby klinického stavu, zahrnující bolest, migrénu, střevní neprůchodnost a syndrom podráždění střev.

Alternativně se také předkládaný vynález týká sloučeniny vzorce (I) nebo jejího farmaceuticky přijatelného solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu pro použití při léčbě, zvláště pro použití při profylaxi nebo léčbě klinického stavu u savců, jako je člověk, u něhož se indikuje inhibitor syntetázy oxidu dusnatého, například inhibitor iNOS. Zvláště se předkládá sloučenina vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelný solvát nebo fyziologicky funkční derivát pro profylaxi nebo léčbu zánětlivého a/nebo imunitního onemocnění, jako je artritida, alergická rhinitida nebo astma. V dalším výhodném aspektu se

předkládaný vynález týká sloučeniny vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelného solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu pro profylaxi nebo léčbu bolesti, migrény, neprůchodnosti střev nebo syndromu podráždění střev.

Množství sloučeniny vzorce (I) nebo jejího farmaceuticky přijatelného solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu, který se požaduje pro dosažení terapeutického účinku, se bude samozřejmě měnit s konkrétní sloučeninou, cestou podávání, předmětem léčby a konkrétním onemocněním nebo poruchou, která se léčí. Sloučeniny podle vynálezu se mohou podávat orálně nebo injekcí v dávce 0,001 až 200 mg/kg denně, výhodně 0,01 až 20 mg/kg denně. Rozmezí dávek pro dospělé lidi jsou obecně 0,1 mg až 10 g/den a výhodně 1 mg až 1 g/den. Tablety nebo jiné formy provedení jednotlivých dávek mohou obvykle obsahovat množství sloučeniny podle vynálezu, které je účinné při této dávce nebo jako násobky této dávky, například jednotky, obsahující 0,1 mg až 500 mg, obvykle okolo 1 mg až 200 mg.

Pokud je možné podávat sloučeninu vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelný solvát nebo fyziologicky funkční derivát samostatně, je výhodné je předkládat ve formě farmaceutického prostředku.

Podle toho se předkládaný vynález dále týká farmaceutického prostředku, obsahující sloučeninu vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelný solvát nebo fyziologicky funkční derivát a farmaceuticky přijatelný nosič nebo pomocnou látku a případně jednu nebo více jiných terapeutických složek.

Předkládaný vynález se také týká použití sloučeniny vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelného solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu pro výrobu léčiva pro profylaxi nebo léčbu klinického stavu, u něhož se indikuje inhibitor syntetázy oxidu dusnatého, například inhibitor iNOS, například zánětlivá a/nebo imunitní porucha, jako je artritida, alergická rhinitida nebo

astma. V dalším výhodném aspektu se předkládaný vynález týká sloučeniny vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelného solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu pro výrobu léčiva pro profylaxi nebo léčbu klinického stavu, zahrnující bolest, migrénu, neprůchodnost střev a syndrom podráždění střev.

Dále pojem „aktivní složka“ znamená sloučeninu vzorce (I) nebo její farmaceuticky přijatelný solvát nebo fyziologicky funkční derivát.

Formulace zahrnují formulace, které jsou vhodné pro orální, parenterální (zahrnující subkutanní, intradermální, intramuskulární, intravenozní a intra-artikulární), inhalaci (zahrnující jemné částice prášku nebo mlhy, které se mohou vytvořit různými typy aerosolů, vytlačených do odměřených dávek, rozprašovači nebo insulfátory), rektální a lokální (zahrnující dermální, bukalní, sublinguální a intraokulární) podávání, ačkoliv nejvhodnější cesta může být závislá například na stavu a poruše příjemce. Formulace se mohou předkládat výhodně ve formě jednotkové dávky a mohou se vyrobit kterýmkoli způsobem, velmi dobře známým ve farmacii. Všechny způsoby zahrnují krok zapracování aktivní složky do nosiče, který tvoří jedna nebo více dalších složek. Obecně se formulace vyrobí jednotným a dokonalým sloučením aktivní složky s kapalnými nosiči nebo jemně rozděleným pevnými nosiči nebo oběma způsoby a potom, pokud je to žádoucí, zformováním produktu do žádané formulace.

Formulace podle předkládaného vynálezu, které jsou vhodné pro orální podávání, se mohou předkládat jako konkrétní jednotky, jako jsou kapsle, tobolky nebo tablety, přičemž každá obsahuje předem definované množství aktivní složky; jako prášek nebo granule; jako roztok nebo suspenze ve vodné nebo nevodné formě; nebo jako emulze oleje ve vodě nebo jako emulze vody v oleji. Aktivní složka se může také být ve formě žvýkačky, lektvaru nebo pasty.

Tableta se může vyrobit stlačením nebo tvarováním, případně s jedním nebo více dalšími složkami. Stlačené tablety se mohou vyrobit ve vhodném zařízení stlačením aktivní složky v libovolné formě, jako je prášek nebo granule, případně smíchané s pojivem, mazadlem, inertním ředidlem, povrchově aktivním nebo disperzním činidlem. Tvarované tablety se mohou vyrobit tvarováním ve vhodném zařízení směsi práškové sloučeniny zvlhčené inertním kapalným ředidlem. Tablety se mohou případně potáhnout a mohou se formulovat tak, že umožňují pomalé nebo řízené uvolňování aktivní složky.

Formulace pro parenterální podávání zahrnují vodné a nevodné sterilní injekční roztoky, které mohou obsahovat antioxidanty, pufrы, bakteriostatika a rozpuštěné látky, jimiž se formulace stává izotonická s krví konkrétního příjemce; a vodné a nevodné sterilní suspenze, které mohou zahrnovat suspenzační a zahušťovací prostředky. Formulace se mohou předkládat v zásobnících o jedné nebo více dávkách, například utěsněné ampule a lahvičky, a mohou se skladovat v suchém ledu (lyofylizované), což vyžaduje bezprostředně před použitím pouze přidání sterilního kapalného nosiče, například solného roztoku nebo vody pro injekční účely. Injekční roztoky a suspenze mohou připravit ze sterilních prášků, granulí a tablet způsobem popsaným výše.

Formulace pro rektální podávání se mohou předkládat jako čípky s obvyklými nosiči, jako je kakaové máslo nebo polyethylenglykol.

Formulace pro lokální podávání do úst, například bukálně nebo sublinguálně, zahrnují pastilky, obsahující aktivní složku na chuťové bázi, jako je sacharóza a akácie nebo kozínek, pastilky, obsahující aktivní složku na bázi želatiny a glycerolu nebo sacharózy a akácie.

Relativně nehydroskopická povaha sloučeniny vzorce (I) umožňuje, že se může zvláště výhodně podávat v pevné formě, například ve formě tablet.

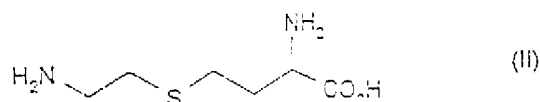
Ve výhodném aspektu se předkládaný vynález týká pevné dávkové formy, která obsahuje sloučeninu vzorce (I) nebo její solvát nebo fyziologicky funkční derivát.

Výhodné formulace jednotkové dávky jsou formulace, obsahující výše uvedenou účinnou dávku aktivní složky nebo její vhodnou frakci.

Rozumí se, že kromě složek uvedených výše mohou formulace podle tohoto vynálezu zahrnovat jiné prostředky obvyklé v oboru s ohledem na typ formulace, například prostředky vhodné pro orální podávání mohou zahrnovat chuťové látky.

Podle dalšího aspektu se vynález týká způsobu výroby sloučeniny vzorce (I) nebo jejího solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu, který zahrnuje:

(i) provedení reakce sloučeniny vzorce (II)



nebo jejího enantiomaru, soli nebo chráněného derivátu, se sloučeninou vzorce (III)



nebo její solí, kde L je odštěpitelná skupina, nejvýhodněji skupina C₁₋₆ - alkoxy (například ethoxy), skupina alkylthio, skupina aralkylthio, skupina

arylthio (například benzylthio), skupiny 1- nebo 2-naftylmethylthio nebo skupina heterocykl; a potom následující kroky v kterémkoli pořadí:

- (ii) převedení výsledné sloučeniny na monofosfátovou sůl;
- (iii) případné odstranění kterékoliv ochranné skupiny;
- (iv) případné oddělení enantiomeru ze směsi enantiomerů;
- (v) případnou konverzi produktu na její odpovídající solvát nebo fyziologicky funkční derivát.

S výhodou se sloučeniny vzorce (I), vyrobené tímto způsobem, čistí rekrystalizací z vhodného rozpouštědla, jako je vodný roztok, například voda, vodný roztok alkoholu nebo vodný roztok acetonitrilu, nebo polární organické rozpouštědlo, například N,N-dimethylformamid, dimethylsulfoxid, dimethylacetamid nebo 1-methyl-2-pyrrolidinon. Výhodným rozpouštědlem pro rekrystalizaci je vodný roztok alkoholu.

Ve výhodném provedení se provede reakce sloučeniny, která vznikla z reakce sloučenin vzorce (II) a (III), s kyselinou fosforečnou, výhodně s kyselinou ortofosforečnou, za vzniku sloučeniny vzorce (I).

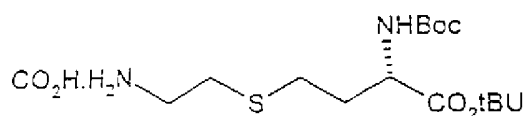
S výhodou zahrnuje krok převedení výsledné sloučeniny na fosfátovou sůl dvoufázovou reakci, za použití toluenu a vodného roztoku kyseliny fosforečné.

Ve výhodném provedení se po provedení kroku (i) do vodné vrstvy přidá toluen, přičemž vodná vrstva vzniká z reakce sloučeniny vzorce (II) nebo jejího enantiomeru, soli nebo chráněného derivátu se sloučeninou (III) nebo její soli za vzniku dvoufázové směsi; toluenová vrstva se oddělí ze směsi; do toluenové vrstvy se přidá vodný roztok kyseliny fosforečné za vzniku další dvoufázové směsi; a z této další směsi se oddělí vodná vrstva.

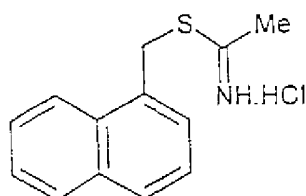
Pokud L je skupina C₁₋₆-alkoxy, může se výše uvedená reakce v kroku (i) provést v roztoku o alkalické hodnotě pH, například pH 8 až 11, výhodně při

pH 5 až 10,5 a při nízké teplotě, například -5 °C až 25 °C, výhodně 20 °C. Pokud L je skupina alkylthio, aralkylthio nebo arylthio, reakce se může uskutečnit v organickém rozpouštědle, například v dimethylformamidu, tetrahydrofuranu, ethylacetátu nebo C₁₋₄ -alkoholu, jako je ethanol, při mírné teplotě, například 10 až 40 °C, výhodně při teplotě okolí.

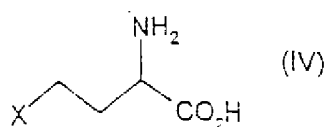
Výhodně je sloučenina vzorce (II)



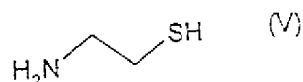
Výhodně je sloučenina vzorce (III)



Sloučeniny vzorce (II) a jejich deriváty se mohou vyrobit provedením reakce sloučeniny vzorce (IV),



kde X je odštěpitelná skupina, nejvýhodněji halogenová skupina, jako je Br, nebo jejího enantiomeru, soli nebo chráněného derivátu se sloučeninou vzorce (V)



nebo její soli nebo chráněným derivátem.

Sloučeniny vzorce (III) a jejich soli se mohou vyrobit způsoby organické chemie, které jsou velmi dobře známe odborníkovi v oboru, například způsoby popsanými *Shearer et al* v *Tetrahedron Letters*, 1997, 38, 179-182.

Ochranné skupiny, používané při výrobě sloučenin vzorce (I) se mohou použít obvyklým způsobem, například za použití metod, popsaných v „Protective Groups in Organic Synthesis“ od Theodora W Green, 2. vydání (John Wiley a synové, 1991), které také popisuje metody odstranění těchto skupin.

Ve výše uvedených reakcích jsou primární aminy výhodně chráněné jako karbamáty, jako jsou skupiny t-butoxykarbonyl nebo benzyloxykarbonyl, které se mohou odstranit za kyselých podmínek, například působením kyseliny chlorovodíkové nebo hydrogenolýzou.

Jak bude odborníkovi v oboru zřejmé, použití těchto ochranných skupin může zahrnovat ortogonální ochranu aminoskupin v sloučeninách vzorce (II), aby se usnadnilo odstranění jedné skupiny za přítomnosti jiné, tedy umožnit selektivní reaktivitu samotné aminové funkční skupiny. Například skupina benzyloxykarbonyl se může selektivně odstranit hydrogenolýzou. Odborník v oboru bude také znát jiné ortogonální strategie ochrany, použitelné obvyklým způsobem, popsaným v Theodora W. Green (*vide supra*).

Enantiomerní sloučeniny podle vynálezu se mohou získat (a) oddělením složek z odpovídající racemické směsi, například způsobem chirální chromatografické kolony, enzymatickými rozlišovacími metodami nebo výrobou a separací vhodných diastereoizomerů, nebo (b) přímou syntézou z vhodných chirálních výchozích materiálů výše popsanými způsoby.

Případná konverze sloučeniny vzorce (I) na odpovídající solvát nebo fyziologicky funkční derivát se může uskutečnit způsoby, známými odborníkovi v oboru. Například trihydrát sloučeniny vzorce (I) se může vyrobit z odpovídajícího monohydrátu tak, že se vystaví působení prostředí s vysokou vlhkostí po dobu 24 hodin.

Přehled obrázků na výkresech

Předkládaný vynález bude následně popsán příkladem pouze s odkazem na přiložené grafické výkresy, kde:

Obr. 1 je plně izotermní graf při teplotě 25 °C % cílové relativní vlhkosti proti % hmotn. změny (hmotn./hmotn.), který zobrazuje sorpci a desorpci vlhkosti sloučeniny vzorce (I), monohydrátu;

Obr. 2 je jiný plně izotermní graf při teplotě 25 °C % cílové relativní vlhkosti proti % hmotn. změny (hmotn./hmotn.), který zobrazuje sorpci a desorpci vlhkosti sloučeniny vzorce (I), monohydrátu;

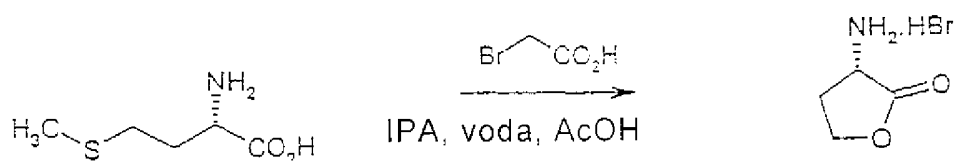
Obr. 3 je další plně izotermní graf při teplotě 25 °C % cílové relativní vlhkosti proti % hmotn. změny (hmotn./hmotn.), který zobrazuje sorpci a desorpci vlhkosti sloučeniny vzorce (I), monohydrátu.

Obr. 4 je srovnávací izotermní graf sorpce vlhkosti při teplotě 25 °C % cílové relativní vlhkosti proti % hmotn. změny kyseliny (2S)-2-amino-4-[[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-thio]-butanové, sloučeniny s kyselinou chlorovodíkovou; a

Obr. 5 je plně izotermní graf při teplotě 25 °C % cílové relativní vlhkosti proti % hmotn. změny (hmotn./hmotn.), který zobrazuje sorpci a desorpci vlhkosti sloučeniny vzorce (I), trihydrátu. Stopy sorpce a desorpce se překrývají. Sorpční izoterma začíná při relativní vlhkosti 30 % a zvyšuje se na 90 %, a následně desorpční z 90 % na 0 % relativní vlhkosti.

Obr. 6 je zobrazení difrakce záření X sloučeniny vzorce (I), monohydrátu.

Obr. 7 je zobrazení difrakce záření X sloučeniny vzorce (I), trihydrátu.

Příklady provedení vynálezu**Příklad 1** Výroba sloučeniny vzorce (II)**A)** Stupeň 1: Výroba L-homoserin laktonu

L-Methionin

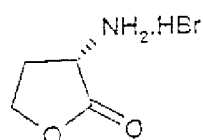
MH (molekulová hmotnost) = 149, 21

L-Homoserin lakton

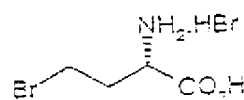
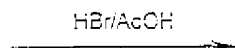
MH = 182,01

Reakce se provedla pod atmosférou dusíku. Vyrobita se míchaná suspenze L-methioninu (1 mol ekv., 1,0 hmotn.) při pokojové teplotě ve vodě (4 obj.), isopropylalkoholu (4 obj.) glaciální kyseliny octové (1,6 obj.), do které se přidala kyselina bromoctová (1,0 hmotn.). Suspenze se zahřívala na teplotu 50 °C a udržovala při této teplotě 2 hodiny. Teplota se zvýšila na ca. 82-85 °C a roztok se zahříval dalších 5 hodin. Oranžově-hnědý roztok se ochladil a rozpouštědla se odstranila za sníženého tlaku. Hustá, tmavě hnědá kaše se zahřívala (teplota vodní lázně 90 °C) dvě hodiny ve vakuu. Kaše se nechala ochladit, potom se suspendovala ve 4M HCl v dioxanu (2 obj.) a míchala při pokojové teplotě minimálně 3 hodiny. Krystalická pevná látka se jímala filtrací a suspendovala v izopropylalkoholu (1,5 obj.): suspenze se míchala alespoň 1 hodinu. Pevná látka se opět jímala filtrací a sušila ve vakuu při teplotě 50-60 °C za vzniku L-homoserin laktonu ve formě bílé, zabarvené krystalické pevné látky.

B) Stupeň 2: Výroba hydrochloridu kyseliny (2S)-2-amino-4-bromobutanové



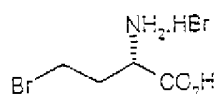
MH = 182,01



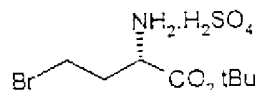
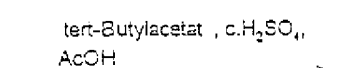
MH = 262,93

Reakce se provedla pod atmosférou dusíku. L-homoserin lakton (1,0 mol ekv., 1,0 hmotn.) se suspendoval a míchal v glaciální kyselině octové (2 obj.) při teplotě 20 ± 5 °C za stále atmosféry N_2 . Do suspenze se přidalo (8 obj.) 45 % hmotn. roztoku bromovodíku v kyselině octové. Obsah se zahříval na teplotu 52 ± 1 °C 4 hodiny a potom se míchal při teplotě 52 ± 1 °C 16 hodin za vzniku bílé pevné látky, suspendované ve žlutém nebo oranžovém roztoku. Obsah se ochladil na teplotu 20 ± 2 °C a udržoval při teplotě 20 ± 2 °C alespoň dvě hodiny, přičemž se produkt zcela vysrážel. Pevná látka se jímala filtrací. Koláč se potom promyl, nejprve kyselinou octovou (3 x 2 obj.) a potom terc.-butyletherem (TBME; 3 x 2 obj.). Produkt se sušil na konstantní hmotnost ve vakuové peci při teplotě 45 ± 5 °C a jímал jako bílá/zabarvená bílá krystalická pevná látka.

C) Stupeň 3: Výroba terc.-butyl (2S)-2-amino-4-bromobutanoát sulfátu



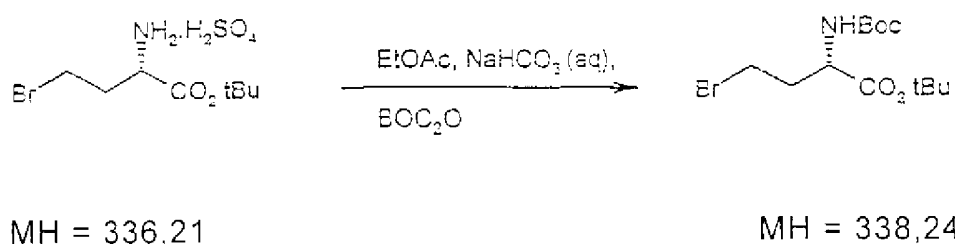
MH = 262,93



MH = 336,21

Reakce se provedla pod atmosférou dusíku. Hydrochlorid kyseliny (2S)-2-amino-4-bromobutanové (1 mol ekv., 1,0 hmotn.) se suspendoval a míchal v terc.-butylacetátu (10 obj.) při teplotě 5 ± 3 °C ca. 1 hodinu pod atmosférou N_2 . Do suspenze se 30 minut po kapkách přidávala koncentrovaná kyselina sírová (1,2 ekv., 0,445 hmotn.), přičemž se udržovala teplota obsahu 5 ± 3 °C. Obsah se zahřál na teplotu 18 ± 3 °C a míchal při této teplotě 10 minut. Přidávala se 10 minut glaciální kyselina octová (2,5 obj.) a potom se reakční směs silně míchala, dokud se nezískal čirý roztok (až 3 hodiny). Míchání pokračovalo při teplotě 18 ± 3 °C alespoň 2 hodiny. Po nasazení krystalizace reakční směs zrála alespoň 4 hodiny při teplotě 18 ± 3 °C. Potom se do kaše 50 minut přidával toluen (5,5 obj.). Před jímáním produktu filtrací se výsledná bílá směs míchala 18 hodin při teplotě 18 ± 3 °C. Filtrační koláč se promyl ethylacetátem (2,5 obj.). Vlhký produkt se proplachoval čerstvým ethylacetátem (10 obj.) při teplotě 20 ± 3 °C 1 hodinu. Produkt se opět jímá filtrací a filtrační koláč se promyl ethylacetátem (2 x 2,5 obj.). Produkt se sušil ve vakuové peci při teplotě 20 ± 5 °C.

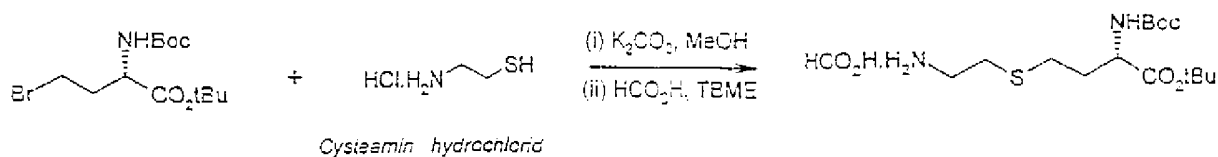
D) Stupeň 4: Výroba terc.-butyl (2S)-4-bromo-2-[(terc.-butoxykarbonyl)-amino]-butanoátu



Reakce se provedla pod atmosférou dusíku. Bezvodý hydrogenuhličitan sodný (2,0 mol ekv.) se rychle míchal ve vodě (3,0 obj.) při teplotě 20 ± 3 °C pod stálou atmosférou N_2 . Přidal se ethylacetát (3,0 obj.) a směs se ochladila na teplotu 5 ± 2 °C. Po dobu ca. 20 minut se přidával se roztok terc.-butyl (2S)-2-

amino-4-bromobutanoát sulfátu (1,0 mol ekv., 1,0 hmotn.) ve vodě (2,0 obj.), přičemž se udržovala teplota obsahu 5 ± 2 °C. Potom se do reakční směsi 5 minut přidával roztok di-*t*-butyldikyrbonátu (0,96 ekv.) v ethylacetátu (2,0 obj.), přičemž se teplota obsahu udržovala při 5 ± 2 °C. Dvofázová směs se nechala zahřát na teplotu 20 ± 3 °C a potom se míchala dalších 3-5 hodin. Vrstvy se oddělily přes noc. Vodná vrstva se odstranila a organická vrstva se promyla solným roztokem (1 x 5 obj.). Vrstvy se oddělily a organická vrstva se sušila nad bezvodým MgSO_4 , filtrovala a potom zkoncentrovala za sníženého tlaku za vzniku bezbarvého oleje. Bezbarvý olej se stáním změnil na tvrdou bílou pevnou látku.

E) Stupeň 5: Výroba terc.-butyl S-(2-aminoethyl)-N-(terc.-butoxy-karbonyl)-L-homocysteinátu



MH = 338,24

MH = 380,15

MH = 334,12 (volná báze)

Reakce se provedla pod atmosférou dusíku. Do míchané suspenze cysteamin hydrochloridu (1,5 mol ekv.) v methanolu (5 obj.) se při teplotě 20 ± 3 °C pod atmosférou N_2 přidal bezvodý uhličitán draselný (3,0 mol ekv.). Směs se míchala 30 minut a potom se po kapkách přidával roztok terc.-butyl (2S)-4-bromo-2-[(terc.-butoxykarbonyl)-amino]-butanoátu (1,0 mol ekv., 1,0 hmotn.) v methanolu (5 obj.), přičemž se udržovala teplota obsahu při 20 ± 3 °C. Reakční směs se nechala míchat při teplotě 25 ± 2 °C 4 hodiny. Reakční směs se zkoncentrovala za sníženého tlaku za použití vodní lázně při teplotě < 30 °C za vzniku bílého zbytku. Zbytek se rozdělil mezi terc.-butylmethylether (TBME;

8 obj.) a vodu (8 obj.). Po 10 minutách třepání/míchání se vrstvy nechaly oddělit. Vodná fáze se odstranila a organická fáze se zkoncentrovala za sníženého tlaku za použití vodní lázně při teplotě $<30\text{ }^{\circ}\text{C}$ na přibližně poloviční objem (ca. 4 obj.). Po kapkách se přidávala kyselina mravenčí (1,0 mol ekv.) do míchaného roztoku TBME, přičemž se udržovala teplota obsahu $20\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakční směs se míchala při teplotě $20\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ jednu hodinu, během níž se vytvořila bílá sraženina. Směs se chladila na teplotu $5\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ alespoň 16 hodin. Produkt se jímá filtrací a potom se promyl dalším roztokem TBME (2 x 1 obj.). Pevná látka se sušila na konstantní hmotnost ve vakuové peci při teplotě $40\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ za vzniku produktu ve formě bílé krystalické pevné látky.

Příklad 2 Alternativní výroba sloučeniny vzorce (II)

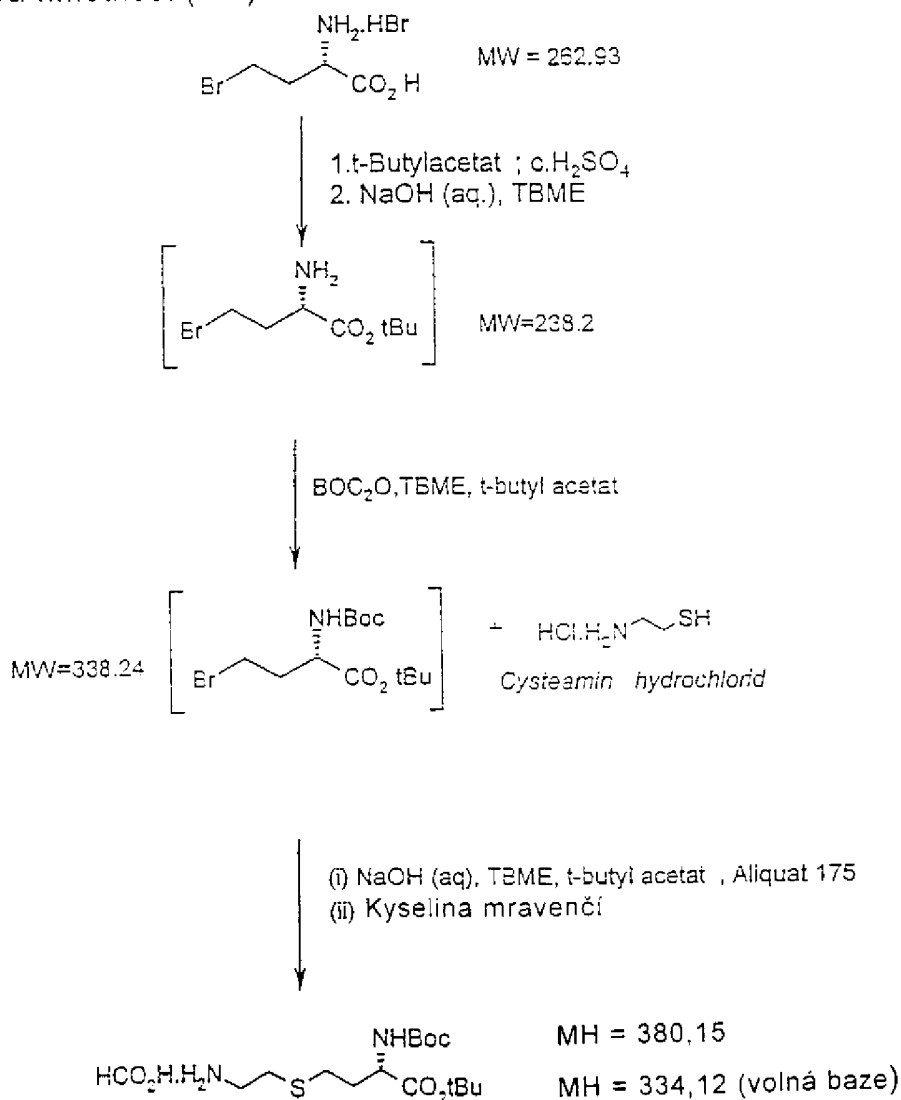
Hydrobromid kyseliny (2S)-2-amino-4-bromobutanové (1,0 hmotn., 1,0 mol) se suspendoval a míchal v terc.-butylacetátu (TBA, 5 obj.) při teplotě ca. $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ pod stálou atmosférou dusíku. Do suspenze se 20 minut přidávala koncentrovaná kyselina sírová (98 % čistota; 1,2 mol ekv.), přičemž se udržovala teplota obsahu $\sim 15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Obsah se potom zahříval asi $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a nechal míchat alespoň 7 hodin při teplotě $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po 1-2 hodinách od konce přidávání kyseliny sírové se pozorovala krystalizace. Po dobu 60 minut se přidal 2M vodný roztok hydroxidu sodného (8 mol ekv.), přičemž se udržovala teplota obsahu ca. $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Zkontrolovala se hodnota pH vodného roztoku a zjistilo se, že je vyšší než 9. Vrstvy se oddělily a vodná vrstva se vyhodila.

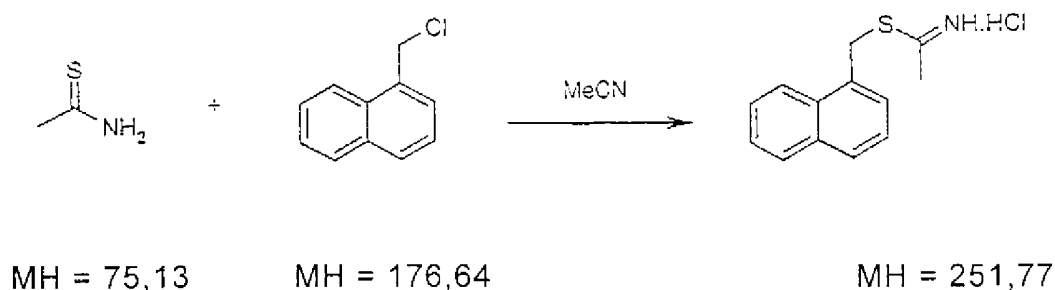
V odděleném zásobníku se v TBME (2 obj.) rozpustil di-t-butyldikarbonát (99 %; 0,95 mol ekv.). tento roztok se 20 minut přidával do roztoku TBA, přičemž se udržovala teplota obsahu pod $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Roztok se míchal při teplotě $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 4 hodiny.

Do reaktoru se vložil 32 % hmotn./hmotn. NaOH (4 obj.) a ochladil na ca. $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přidal se cysteamin hydrochlorid (1,2 mol ekv.), přičemž se udržovala teplota obsahu $10\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tato směs se potom míchala ca. 30 minut, přičemž se dosáhlo úplné neutralizace hydrochloridu. Přidal se Aliquat 175 (methyltributylamoniumchlorid; 75 % hmotn./hmotn. vodný roztok; 0,05 mol),

přičemž se udržovala teplota obsahu 10-20 °C. Do vodného roztoku se 20 minut přidával roztok TBA/TBME, přičemž se udržovala teplota ca. 20 °C. Dvofázová směs se potom míchala při teplotě ca. 20 °C ca. 20 hodin. Po dobu ca. 10 minut se přidávala voda (4 obj.), přičemž se udržovala teplota obsahu ca. 20 °C. Mícháním 15 minut vznikly 2 čiré vrstvy. Vodná vrstva se oddělila a vyhodila. Organická vrstva se promyla vodou (2 x 4 obj.). Organický roztok se zředil přidáním TBME (6-8 objemů). Do míchaného roztoku TBA/TBME se ca. 20 minut přidávala kyselina mravenčí (98 % hmotn./ hmotn.; 0,8 mol ekv.), přičemž se udržovala teplota obsahu ca. 20 °C. Reakční směs se ochlazovala na teplotu -5 °C 24 hodin. Produkt se jímá filtrací a potom se promyl dalším roztokem TBME (2 x 1 obj.). Pevná látka se potom sušila ve vakuové peci při teplotě 40±5 °C za vzniku produktu ve formě bílé krystalické pevné látky. Reakční schema tohoto způsobu je uvedeno níže:

MW = molekulová hmotnost (MH)



Příklad 3: Výroba sloučeniny vzorce (III)

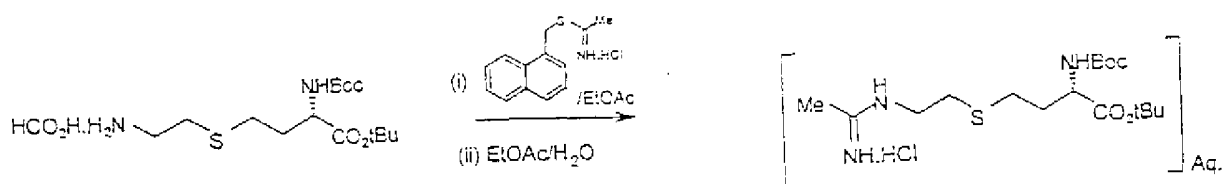
Reakce se provedla pod atmosférou dusíku. Do acetonitrilu (14 obj.) se za míchání pod atmosférou dusíku přidal ethanthioamid (1 hmotn., 1 ekv.). Výsledná kaše se zahřívala na teplotu $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokud se nevytvořil žlutý roztok. Do roztoku se po kapkách přidával oddělený roztok 1-(chloromethyl)-naftalenu (2,47 hmotn., 1,05 ekv.) v acetonitrilu (3 obj.) tak, aby se udržovala teplota obsahu $60\text{ až }65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po skončení přidávání se další část acetonitrilu (1 obj.) použila pro promytí. Výsledný roztok se zahříval na teplotu $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$: do 10-20 minut se pozorovala krystalizace. Kaše se zahřívala při teplotě $70 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ celkem 3 hodiny a potom se ochladila na pokojovou teplotu. Pevná fáze se zfiltrovala a koláč se promyl acetonitrilem (2 x 5 obj.). Výsledná bílá pevná látka se sušila ve vakuu při teplotě $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ alespoň 16 hodin.

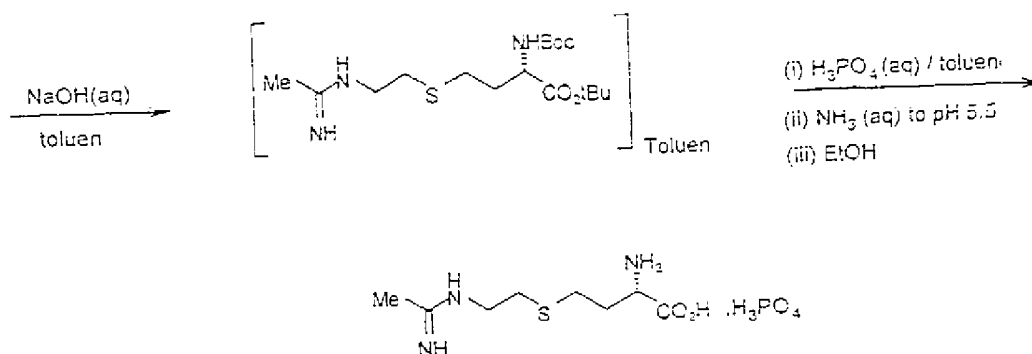
Příklad 4 Výroba sloučeniny vzorce (I) (monohydrát)

Reakce se provedla pod atmosférou dusíku. Směs sloučeniny terc.-butyl S-(2-aminoethyl)-N-(terc.-butoxykarbonyl)-L-homocysteinátu s kyselinou mravenčí (1:1) (sloučenina vzorce II) (1,0 mol ekv., 1,0 hmotn) a 1-naftylmethyl ethanimidothioát hydrochloridu (sloučenina vzorce III) (1,2 mol ekv.) se míchala v ethylacetátu (6 obj.) při pokojové teplotě 2 hodiny. Přidala se voda (8,5 obj.) a směs se rychle míchala 30 minut. Vrstvy se nechaly usadit a

jímala se vodná vrstva, obsahující terc.-butyl N-(terc.-butoxykarbonyl)-S-[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-L-homocysteinát hydrochlorid. Vodná vrstva se ochladila na teplotu 0 °C a přidal se toluen (5 obj.). Pomalu se přidával 32 % hmotn./hmotn. vodný roztok hydroxidu sodného (2,5 mol ekv.), přičemž se udržovala teplota 2 °C a dvoufázová směs se rychle míchala 10 minut. Vrstvy se oddělily, vodná vrstva se vrátila do nádoby a toluenová vrstva se uložila. Do vodné vrstvy se přidal toluen (2,5 obj.) a směs se ochladila na teplotu 0 °C. Pomalu se přidával 32 % hmotn./hmotn. vodný roztok hydroxidu sodného (170 mol ekv.), přičemž se udržovala teplota 0 °C a dvoufázová směs se rychle míchala 5 minut. Vrstvy se oddělily, vodná vrstva se odstranila a toluenové vrstvy, obsahující terc.-butyl N-(terc.-butoxykarbonyl)-S-[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-L-homocysteinát, se spojily v nádobě. Přidal se vodný roztok (2,5 obj.) kyseliny ortofosforečné (1,5 mol ekv.). Dvoufázová směs se rychle míchala při teplotě 70 °C 12 hodin. Potom se přidala voda (4 obj.) a směs se ochladila na teplotu 40 °C. Vodná vrstva se oddělila a hodnota pH se potom upravila na 5,5 za použití koncentrovaného vodného roztoku čpavku, přičemž se udržovala teplota 35 °C. Výsledný vodný roztok se zahříval na teplotu 75 °C a potom se 20 minut přidával ethanol (6,5 obj.), přičemž se udržovala teplota 75 °C. Roztok se 30 minut postupně ochlazoval z teploty 75 °C na 50 °C a zrál. Udržoval se při teplotě 53 °C 2 hodiny a postupně se 4 hodiny ochlazoval na teplotu 5 °C. Výsledná kaše se udržovala při této teplotě 20 minut. Produkt se jímala filtrací a promyl směsí 1:1 ethanol/voda (2 obj.) a potom ethanol (2 obj.). Sloučenina vzorce (I) s názvem kyselina (2S)-2-amino-4-[[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-thio]-butanová, sloučenina s kyselinou fosforečnou, monohydrát, se sušila při teplotě 60 °C ve vakuu na konstantní hmotnost.

Reakční schema tohoto způsobu je uvedeno níže.





Hydroskopické vlastnosti tří vzorcků sloučeniny vzorce (I), monohydrátu, vyrobené podle výše uvedeného způsobu, se testovaly, zjišťováním jejich % hmotn. změny (hmotn./hmotn.) cílové relativní vlhkosti 0 až 90 % při teplotě 25 °C. Výsledky jsou uvedeny na obrázcích 1 až 3.

Pro provedení těchto měření se použily následující přístroje a parametry:

Hiden IGASORP, série: IGA SA-040;

Hiden Intelligent Analyser, model: HAS-022-120E, série: HALIGA-0042;

- Průtok = 495 ml/min

- Izotermální parametry:

Způsob analýzy: F1

Čekání do: 97 %

Min. doba: 10 minut

Max. doba: 240 minut

Hladina M: 0,2 %

- Izotermální sekvence:

Teplota: 25 °C

Adsorpce/%	Desorpce/%
0	80
10	70
20	60
30	50
40	40
50	30
60	20
70	10
80	0
90	

- Skeny = 2 (1 cykl)

Z obrázků 1 až 3 je vidět, že neexistuje významná absorpce atmosferické vlhkosti pod realivní vlhkostí 70 %.

Difrakce záření X pro kyselinu (2S)-2-amino-4-[[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-thio]butanové, sloučeninu s kyselinou ortofosforečnou, hydrát (1:1) je uvedena na obrázku 6. Tabulka 1 níže uvádí použité přístroje a parametry. Tabulka 2 níže uvádí zaznamenané píky.

Tabulka 1

Výrobce	Phillips Analytical X-Ray B.V. (Holadsko)
Difraktometr, typ	PW1800 (PC-APD)
Sériové číslo	DY701
Trubice anody	Cu

Pokračování tabulky 1

LabdaAlfa 1	1,54056
LabdaAlfa 2	1,54439
Poměr Alfa 21	0,50000
Divergenční štěrbina	automaticky
Přijímací štěrbina	jemná
Používaný monochromátor	ano
Voltáž generátoru	40
Obvyklá trubice	45
Datum, čas	4.10.2003, 3:23
Rozmezí úhlu ($^{\circ}2\theta$)	6.0000 - 45.0000
Velikost stupně skenu ($^{\circ}2\theta$)	0,020
Typ skenu	stupňový (STEP)
Doba stupně skenu	4,00

Tabulka 2

Úhel ($^{\circ}2\theta$)	Relativní intenzita (%)
7,2900	100
7,5100	19,4
8,5000	1
12,0650	0
14,4950	60
16,9250	2
18,4300	16

Pokračování tabulky 2

18,6950	2
20,3350	2
20,7400	1
21,1200	1
21,8250	6
22,2150	10
22,4500	12
23,4950	2
23,7100	4
24,1450	38
25,3450	2
25,8800	2
26,4950	3
26,6750	2
27,4650	7
27,9600	6
28,4050	2
29,0200	7
29,4950	1
30,1800	3
30,7400	1
31,8000	1
32,1800	2
32,5200	5

Pokračování tabulky 2

33,8400	1
34,4650	5
35,5200	1
35,8150	1
36,5950	5
37,8300	1
38,5550	1
39,2200	1
39,7850	4
40,9400	1
41,5450	1
42,0900	1
42,5700	1
43,7200	1
44,4700	2

Příklad 5 Výroba sloučeniny vzorce (I) (trihydrát)

Sloučenina vzorce (I) monohydrát, vyrobená způsobem uvedeným v příkladu 4 (5 g), se vystavila po dobu 2 týdnů relativní vlhkosti větší než 80 %. Produkt se analyzoval práškovou difrakcí záření X a zjistilo se trihydrát (obr. 7).

Difrakci záření X pro kyselinu (2S)-2-amino-4-[[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-thio]-butanovou, sloučeninu s kyselinu orotofosforečnou, hydrát (1:3) je uvedena na obr. 7. Tabulka 3 níže uvádí použitý přístroj a parametry. Tabulka 4 níže uvádí zaznamenané píky.

Tabulka 3

Výrobce	Phillips Analytical X-Ray B.V., (Holandsko)
Difraktometr, typ	PW3040/60
Sériové číslo	DY1379
Anodová trubice	Cu
K-Alfa 1 vlnová délka (Å)	1,54056
Úhel divergenční štěrby (°)	0,1250
Přijímací štěrbina	není
Použitý monochromátor	ano
Voltáž generátoru	40
Obvyklá trubice	45
Rozmezí úhlu ($^{\circ}2\theta$)	5,000 - 45,000
Velikost stupně skenu ($^{\circ}2\theta$)	0,0128
Typ skenu	kontinuální
Doba skenu na stupeň (s)	2999,33
Příprava vzorku	vzorek se plní do kapilární trubice
Detektor	Raytech PSD
Způsob PSD	Skenování PSD
Číslo aktivního kanálu PSD	591,00
Sklon PSD	0,0533
Divergenční štěrbina	fixovaná štěrbina $1/8^{\circ}$

Pokračování tabulky 3

Hybridní monochromátor	2xGe220 Asym. (Hybrid)
Zrcadlo	Cu zrcadlo paprsků X (hybrid MRD)

Tabulka 4

Úhel ($^{\circ}2\theta$)	Relativní intenzita (%)
6,558	45
7,261	84
7,748	15
11,469	1
13,127	13
13,530	30
15,529	5
17,241	27
18,082	17
18,288	12
19,688	6
19,867	7
20,122	77
20,302	40
20,884	34
21,877	65
22,025	100
22,520	9

Pokračování tabulky 4

22,943	18
23,041	30
23,182	43
23,380	41
23,796	24
24,422	17
24,607	7
24,934	9
25,569	23
26,156	35
26,432	7
27,347	73
27,499	23
27,796	3
28,195	20
28,743	12
28,961	18
29,313	7
29,861	6
30,011	8
30,225	25
30,810	7
31,095	16
31,366	33

Pokračování tabulky 4

31,541	8
32,228	6
32,585	/
33,260	13
33,473	13
34,113	5
34,387	1
34,676	7
34,866	12
35,020	7
35,284	3
36,287	6
36,578	8
36,761	17
37,054	4
37,530	13
37,733	5
38,386	7
38,597	13
38,834	15
39,462	9
39,827	9
39,897	8
40,082	4

Pokračování tabulky 4

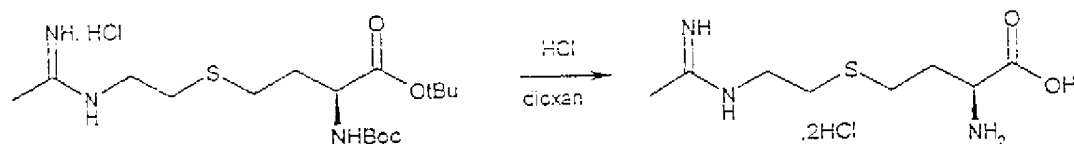
40,367	4
40,492	4
40,875	2
41,464	7
41,839	1
42,466	5
42,557	6
43,166	2
43,478	2
43,750	3
44,016	4
44,473	3
44,672	2

Hydroskopická schopnost vzorku sloučeniny vzorce (I) trihydrátu, vyrobeného podle výše uvedeného způsobu se testovala měřením % hmotn. změny (hmotn./hmotn.) při cílové relativní vlhkosti 0 až 90 % při teplotě 25 °C. Používané přístroje a parametry pro vytvoření dat byly uvedeny v tabulkách 1 až 3. Výsledky jsou uvedeny na obrázku 5.

Srovnávací příklad A

Dihydrochloridová sůl sloučeniny, jejíž sloučeninou vzorce (I) je fosfátová sůl, se vyrobila provedením reakce meziproductu z příkladu 1 s názvem terc.-butyl-(terc.-butoxykarbonyl)-S-[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-L-homocystenát

hydrochlorid, s chlorovodíkem a dioxanem při pokojové teplotě, jak je uvedeno níže.



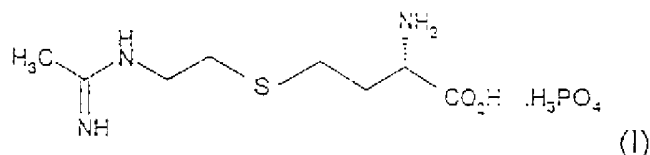
Hydroskopická schopnost vzorku dihydrochloridové soli, vyrobené výše uvedeným způsobem, se testovala měřením její % hmotn. změny (hmotn./hmotn.) při cílové relativní vlhkosti 30 až 80 % při teplotě 25 °C. Výsledky jsou uvedeny na obrázku 4.

Je zřejmé, že probíhala rychlá absorpce atmosferické vlhkosti nad 50% relativní vlhkosti. Při 55% relativní vlhkosti měla dihydrochloridová sůl změnu hmotnosti asi 11 %; při 60% relativní vlhkosti měla dihydrochloridová sůl změnu hmotnosti asi 24 %; a při 65% relativní vlhkosti měla dihydrochloridová sůl změnu hmotnosti asi 32 %. Změna hmotnosti nad relativní vlhkostí v rozmezí 30 až 75 % byla 47 %.

Zastupuje:

Patentové nároky

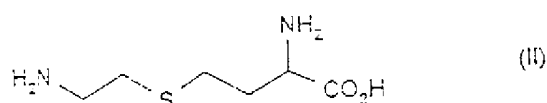
1. Sloučenina vzorce (I)



nebo její solvát nebo fyziologicky funkční derivát.

2. Kyselina (2S)-2-amino-4-[[2-(ethanimidoylamino)-ethyl]-thio]-butanová, sloučenina s kyselinou fosforečnou (1:1), nebo její solvát nebo fyziologicky funkční derivát.
3. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že kyselinou fosforečnou je kyselina ortofosforečná.
4. Sloučenina podle některého z nároků 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že solvátém je hydrát.
5. Sloučenina podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že hydrátem je monohydrát.
6. Sloučenina podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že hydrátem je trihydrát.

7. Způsob profylaxe nebo léčby klinického stavu u savců, jako je člověk, u něhož se indikuje inhibitor syntetázy oxidu dusnatého, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny podle některého z nároků 1 až 6.
8. Způsob podle nároku 7, v y z n a č u j í c í s e t í m, že klinickým stavem je artritida, astma, rhinitida, ileus, migréna, bolest a syndrom podráždění střev.
9. Sloučenina podle některého z nároků 1 až 6 pro použití jako léčivo.
10. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje sloučeninu podle některého z nároků 1 až 6 a farmaceuticky přijatelný nosič nebo pomocnou látku a případně jednu nebo více jiných léčebných složek.
11. Použití sloučeniny podle některého z nároků 1 až 6 pro výrobu léčiva pro profylaxi nebo léčbu klinického stavu, u něhož se indikuje inhibitor syntetázy oxidu dusnatého.
12. Použití podle nároku 11, přičemž klinickým stavem je artritida, astma, rhinitida, ileus, migréna, bolest a syndrom podráždění střev.
13. Způsob výroby sloučeniny uvedené v nároku 1 nebo 2 nebo jejího solvátu nebo fyziologicky funkčního derivátu, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje následující kroky:
 - (i) provedení reakce sloučeniny vzorce (II)



nebo jejího enantiomeru, soli nebo chráněného derivátu, se sloučeninou vzorce (III)



nebo s její solí, kde L je odštěpitelná skupina;

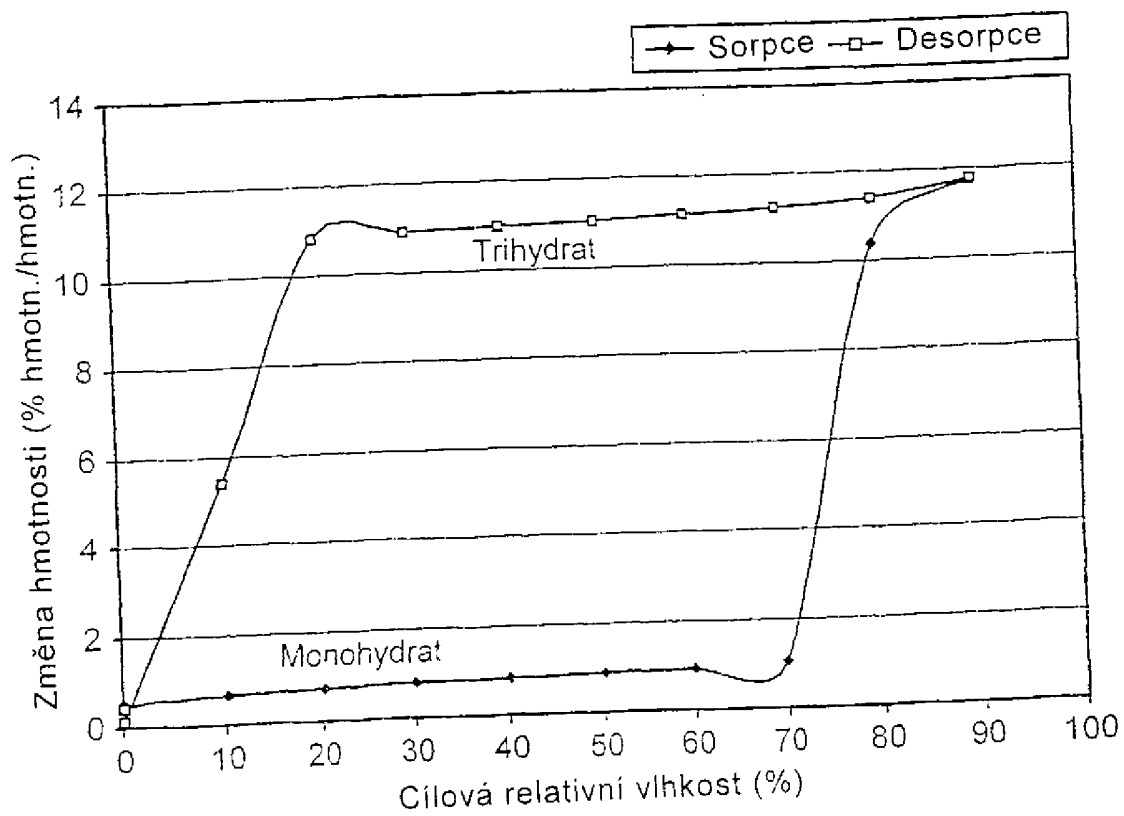
potom se provedou následující kroky v kterémkoli pořadí:

- (ii) konverze výsledné sloučeniny na monofosfátovou sůl;
- (iii) případné odstranění kterékoliv ochranné skupiny;
- (iv) případná separace enantiomeru ze směsi enantiomerů;
- (v) případná konverze produktu na jeho odpovídající solvát nebo fyziologicky funkční derivát.

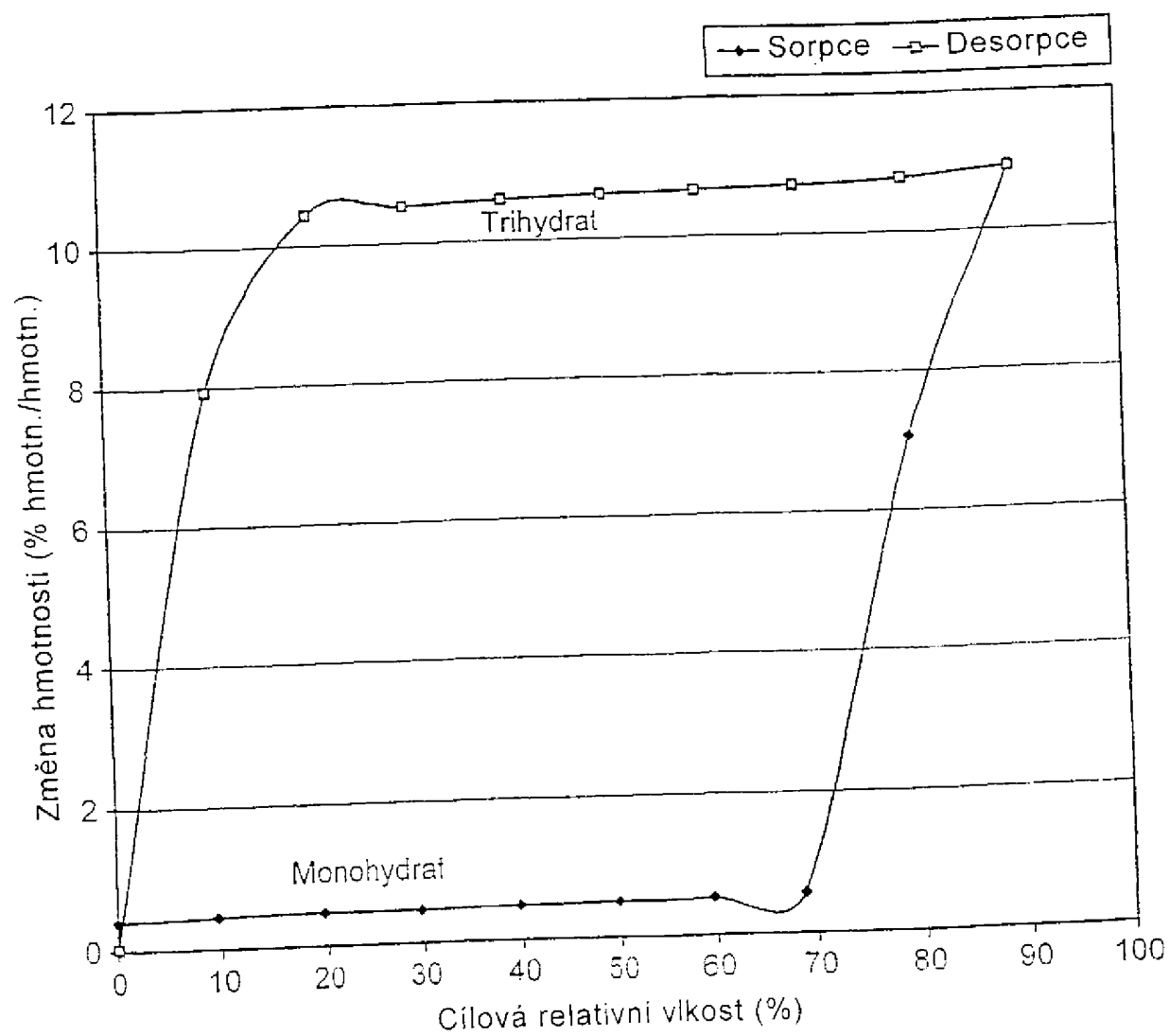
14. Způsob podle nároku 13, v y z n a č u j í c í s e t í m, že krok konverze výsledné sloučeniny na monofosfátovou sůl zahrnuje dvojfázovou reakci za použití toluenu a vodného roztoku kyseliny fosforečné.
15. Způsob podle nároku 13 nebo 14, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se následně po provedení kroku (i) do vodné vrstvy přidá toluen, přičemž vodná vrstva vzniká provedením reakce sloučeniny vzorce (II) nebo jejího enantiomeru, soli nebo chráněného derivátu se sloučeninou

vzorce (II) nebo její solí za vzniku dvoufázové směsi; z této směsi se oddělí toluenová vrstva; do toluenové vrstvy se přidá vodný roztok kyseliny fosforečné za vzniku další dvoufázové směsi; a z této další směsi se oddělí vodná vrstva.

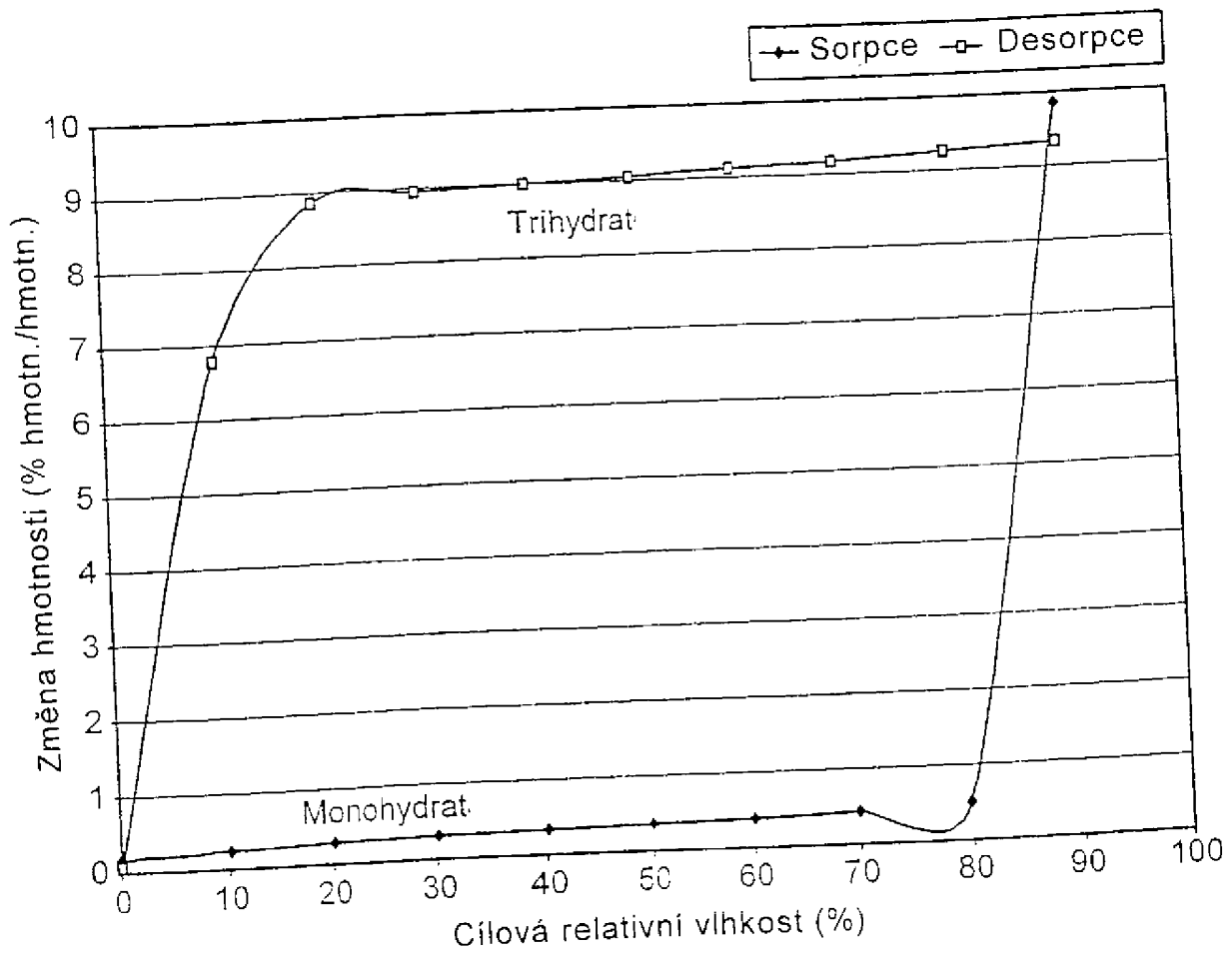
Zastupuje:



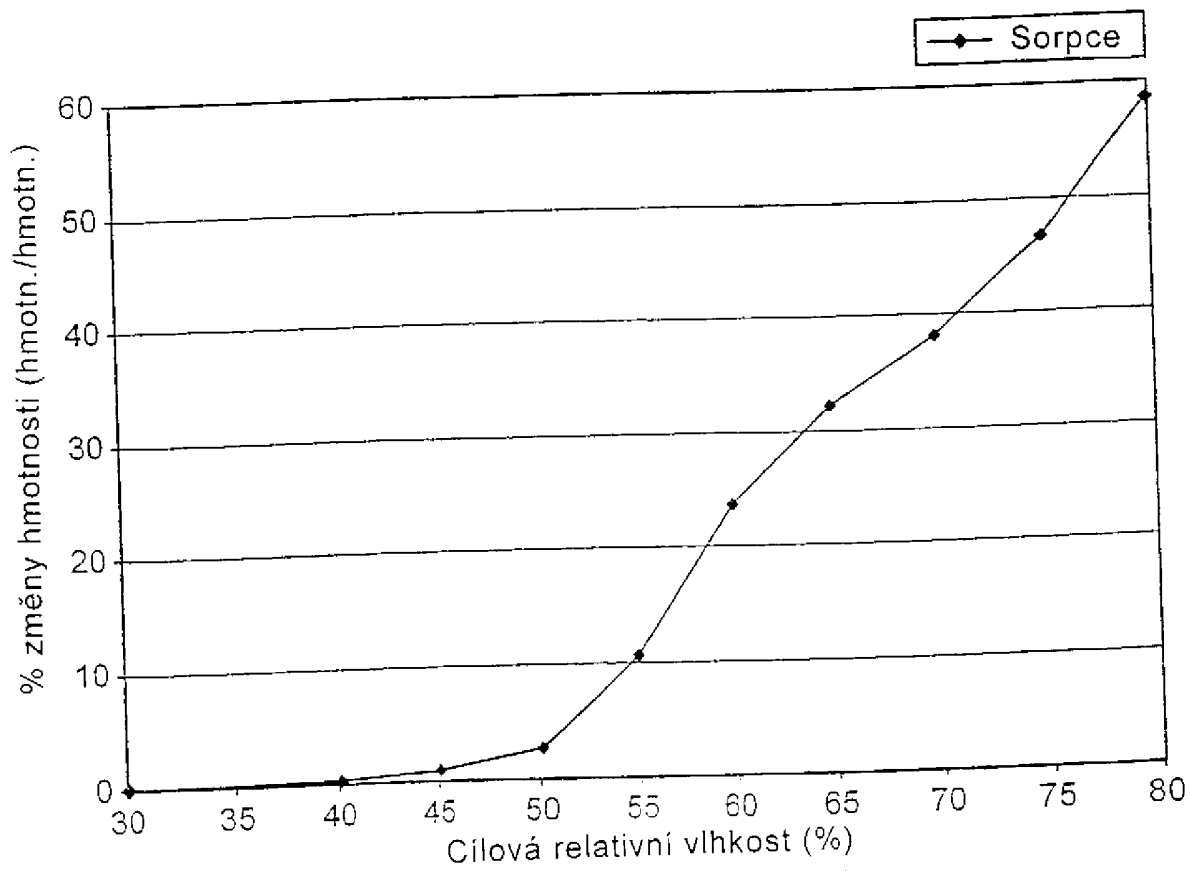
Obr. 1



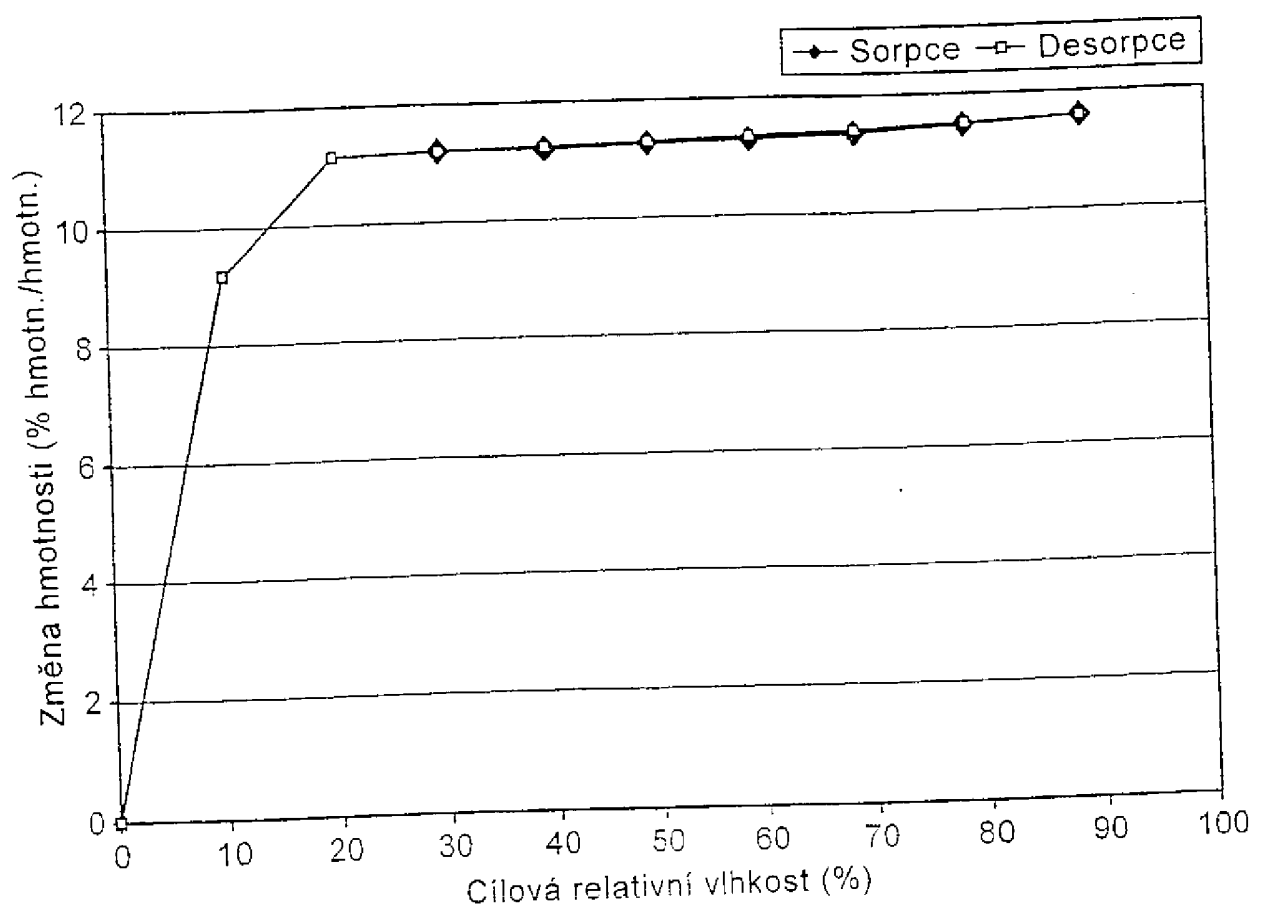
Obr. 2



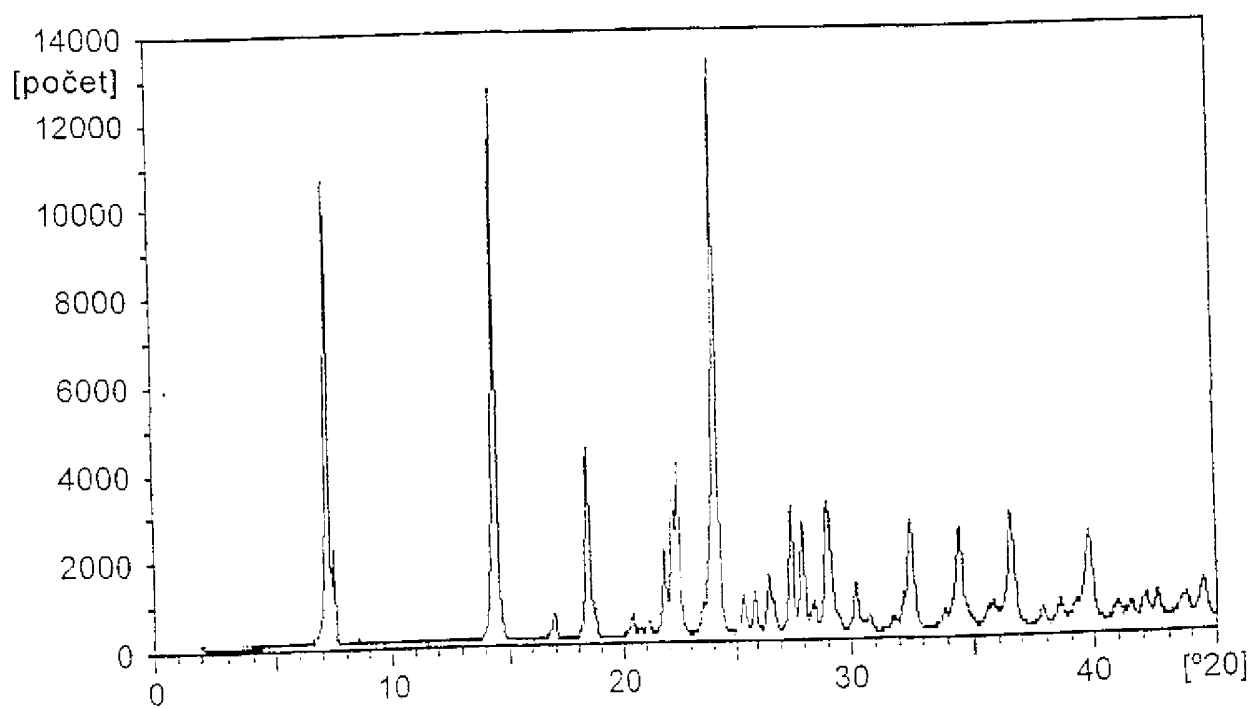
Obr. 3



Obr. 4

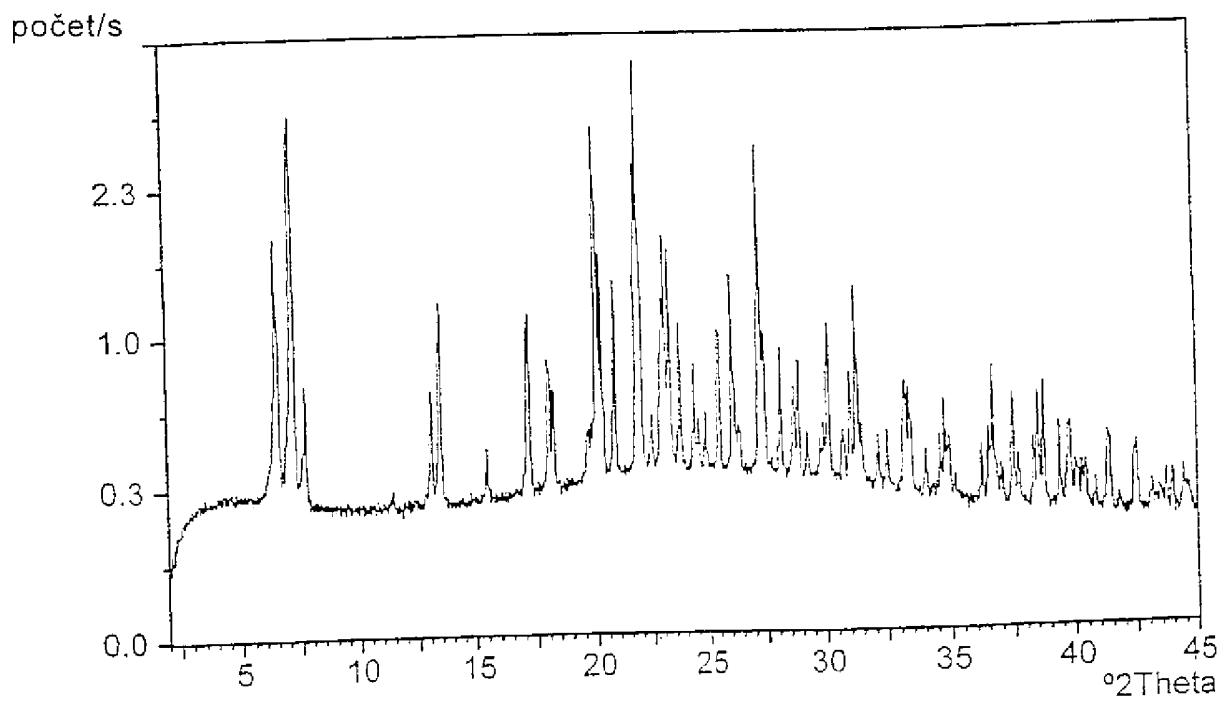


Obr. 5



Obr. 6

717



Obr. 7