

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

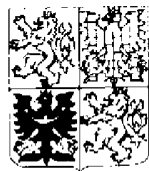
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

4220-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **26. 06. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **30.06.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/1920**

(33) Země priority: **CH**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 10. 98**
(Věstník č. 10/98)

(86) PCT číslo: **PCT/EP96/02842**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/02037**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 F 9/40
C 07 F 9/58
A 61 K 31/66
A 61 K 31/675

(71) Přihlašovatel:

SYMPHAR S. A., Versoix, CH;
SMITHKLINE BEECHAM PLC, Brentford, CH;

(72) Původce:

Nguyen Lan Mong, Versoix, CH;
Niesor Eric, Versoix, CH;
Bentzen Craig Leigh, Versoix, CH;
Phan Hieu Trung, Versoix, CH;
Diep Vinh Van, Versoix, CH;
Floret Simon, Versoix, CH;
Azoulay Raymond, Versoix, CH;
Bulla Alexandre, Versoix, CH;
Guyon-Gellin Yves, Versoix, CH;
Ife Robert John, Harlow, GB;

(74) Zástupce:

Zelený Pavel JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
12000;

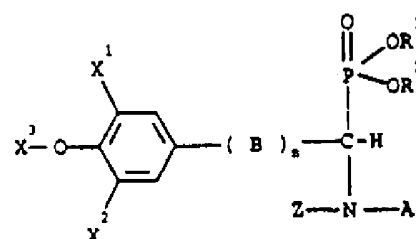
čení periferních artérií, trombózy, aterosklerózy a restenázy po angioplastice.

(54) Název přihlášky vynálezu:

Aminofosfonátové sloučeniny alfa-substituované fenolovou skupinou, způsob jejich přípravy, farmaceutický prostředek a použití

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce /I/ kde význam jednotlivých symbolů je vysvětlen v popise, jsou použitelné pro snižování hladiny cholesterolu. Způsob výroby sloučenin /I/ kde Z=H zahrnuje reakci iminu s fosfitovou skupinou nebo s jejími trialkylsilylovým derivátem nebo její kovovou soli v přítomnosti nebo nepřítomnosti katalyzátoru, nebo pro Z=H reakci aldehydu se sekundárním aminem a s fosfitem. Farmaceutická kompozice obsahuje sloučeninu obecného vzorce /I/ a nosič nebo excipient. Sloučeniny působí snížení hladin lipoproteinu /a/ v plazmě a lze je použít při lé-



(I)

CZ 4220-97 A3

Aminofosfonátové sloučeniny alfa-substituované fenolovou skupinou, způsob jejich přípravy, farmaceutický prostředek a použití

Oblast techniky

Vynález se týká nového terapeutického použití aminofosfátových sloučenin pro snížení hladin lipoproteinu(a) v plazmě a tkáních. Zvláště se tento vynález týká nového použití aminofosfátových derivátů pro přípravu farmaceutických kompozic vhodných pro léčení chorob a poruch spojených s vysokými koncentracemi lipoproteinu(a) v plazmě a tkáních; jako například v případě atherosklerózy, trombózy, restenózy po angioplastice a mrtvice. Tento vynález také skýtá způsob zvýšení trombolýzy a prevence trombózy a způsobu léčení restenózy po angioplastice podáváním pacientovi, který to vyžaduje, aminofosfátové sloučeniny v dávce účinné pro snížení koncentrací lipoproteinu(a) v plazmě a tkáni. Kromě toho vynález také poskytuje skupiny nových aminofosfonátových sloučenin pro výše uvedené použití a kompozice.

Dosavadní stav techniky

Nedávné epidemiologické studie ukázaly silné spojení mezi zvýšenými hladinami lipoproteinu(a) [Lp(a)] v plazmě a výskytem srdečních koronárních chorob, mrtvice a chorob periferních arterií. Lp(a) byl nyní spjat s jako nezávislý rizikový faktor pro kardiovaskulární choroby; kromě toho jeho role v podporování trombózy snižováním trombolýzy je uznávána ve vzrůstajícím rozsahu, viz například „Lipoprotein(a) as a Risk Factor for Preclinical

Atherosclerosis", P. J. Schreiner, J.D. Morrisett, A. R. Sharrett, W. Patsch, H. A. Tyroler, K. Wu a G. Heiss; Arteriosclerosis and Thrombosis, 13, 826 - 833 (1993); „Detection and Quantification of Lipoprotein(a) in the Arterial Wall of 107 Coronary Bypass Patients", M. Rath, T. Niendorf, T. Keblin, M. Dietel, H. J. Krebber a U. Beisiegel; Arteriosclerosis, 9, 579 - 592 (1989); a „Lipoprotein(a) : Structure, Properties and Possible Involvement in Thrombogenesis and Atherogenesis", A. D. Mbewu a P. N. Durrington; Atherosclerosis, 85, 1 - 14 (1990). Možnost zasažení cévních okluzí trombózou a akutní kardiovaskulární syndrom jsou ve zvýšené míře uznávány. Jeden z mechanismu, který zprostředkovává trombózu spojenou s prasknutím atherosklerotických povlaku zahrnuje zvýšené hladiny lipoproteinu(a). Struktura Lp(a) se skládá z částice podobné lipoproteinum o nízké hustotě (low-density lipoprotein, LDL) s glykoproteinem, apolipoprotein(a) [apo(a)], který je připojen disulfidovým můstkem k apo B-100 části LDL. Strukturně je jasná analogie mezi apo(a) a plazminogenem, prekurzorem plazminu, který štěpí fibrin pro rozpouštění krevních sraženin. Avšak na rozdíl od plazminogenu, apo(a) není substrátem pro aktivátory plazminogenu. Strukturní podobnost vedla výzkumníky k postulátu a později prokázání, že apo(a) interferuje s normální fyziologickou funkcí plazminogenu, což vede k potenciální trombogenní aktivitě Lp(a), viz například „Activation of Transforming Growth Factor- β is Inversely Correlated with Three Major Risk Factors for Coronary Artery Disease: Lipoprotein(a), LDL-Cholesterol and Plasminogen Activator Inhibitor-1", A. Chauhan, M. P. Williams, J. C. Metcalfe, A. A. Grace, A. C. Liu, P. M. Lawn, P. R. Kemp, P. M. Schofield a D. J. Grainger;

Circulation, sv. 90, č. 4, část 2, str. 1 - 623 (1994); a „Influence of Human Apo(a) Expression on Fibrinolysis in vivo in Transgenic Mice“, T. M. Palabrica, A. C. Liu, M. J. Aronovitz, B. Furie, B. C. Furie a R. Lawn; Circulation, sv. 90, č. 4, část 2, str. 1 - 623 (1994).

Na základě své předpokládané trombogenní aktivity, Lp(a) byl také aplikován při chorobách periferních arterií, zvláště mrtvice. Nedávné klinické zkoušky ukázaly, že úrovně Lp(a) v séru byly zásadně větší u pacientu s mrtvicí, než u referenční normální populace: „Lp(a) Lipoprotein in Patients With Acute Stroke“, K. Asplund, T. Olsson, M. Viitanen a G. Dahlen; Cerebrovasc. Diseases, 1, 90 - 96 (1991).

Restenóza následující po perkutánní transluminální angioplastice je běžnou komplikací vyskytující se v až 40 případech do 3 až 6 měsíců po zásahu. Má se na to, že hlavním důvodem restenózy je abnormální aktivace a proliferace vaskulárního hladkého svalstva. Důkazy, že vysoké hladiny plasmatických Lp(a) jsou spojeny s proliferací a aktivací buněk hladkého svalstva jsou prokázány in vitro a in vivo následujícími pracemi:

„Proliferation of Human Smooth Muscle Cells Promoted by Lipoprotein(a)“, D. J. Grainger, H. L. Kirschenlohr, J. C. Metcalfe, F. L. Wiessberg, D. P. Wade a R. M. Lawn; Science, sv. 260, str. 1655 - 1658 (1993); a

„Activation of Transforming Growth Factor- β Is Inhibited by Apolipoprotein(a) in vivo“, D. J. Grainger, F. R. Kemp, A. C. Liu, R. M. Lawn a J. C. Metcalfe; Circulation, sv. 90, č. 4, část 2, str. 1 - 623 (1994).

Tato pozorování vedla k hypotéze, která spojuje zvýšené hodnoty Lp(a) v plazmě se zvýšeným výskytem

restenózy. Tato hypotéza byla potvrzena výsledky posledních klinických studií, které ukázaly, že u pacientů s vysokými hodnotami Lp(a) v plazmě snížení hodnot Lp(a) o více než 50 % pomocí LDL-aperézy, výrazně snižuje výskyt restenózy; viz například:

„Effectiveness of LDL-Apheresis in Preventing Restenosis after Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty (PTCA): LDL-Apheresis Angioplasty Restenosis Trial (L-ART)“, H. Yamaguchi, Y. J. Lee, H. Daida, H. Yokoi, H. Miyano, T. Kanoh, S. Ishiwata, K. Kato, H. Nishikawa, F. Takatsu, Y. Kutsumi, H. Mokuno, N. Yamada a A. Noma; Chemistry and Physics of Lipids, sv. 67/68, str. 399 - 403 (1994).

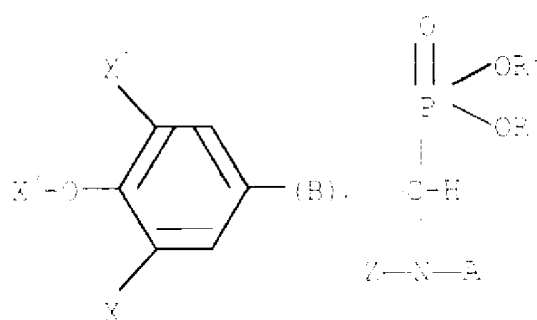
Výše uvedené poznatky daly rozumný důvod ke snížení plazmatických Lp(a) u pacientů s rizikem zvýšených hodnot (>20 až 30 mg/dl). Koncentrace Lp(a) u jednotlivců se jeví být pravděpodobně dané dědičně a jsou ztěží ovlivňovány stravovacím režimem. Ukazuje se, že různé hormony (to je steroidní hormony, růstové hormony, thyroïdní hormony) regulují hladiny Lp(a) v plazmě u člověka. Zvláště zajímavé je to, že léčiva, která účinně snižují LDL, jako sequestrant žlučové kyseliny cholestyramin nebo inhibitory HMGCoA reduktázy lovastatin nebo pravastatin, neovlivňují hladiny Lp(a). Léčiva fibrátové skupiny clofibrat nebo bezafibrat a antioxidantové léčivo probucol jsou stejně neúčinná. Jediné léčivo, o kterém je známo, že snižuje Lp(a), je kyselina nikotinová. Avšak při vysokých dávkách nezbytných pro vykazání účinnosti (4 g/den) má kyselina nikotinová některé vážné vedlejší účinky, které brání jejímu širšímu použití: zarudnutí, vazodilataci a hepatotoxicitu. Proto je léčebný prostředek potřebný ke

snížení zvýšených hladin Lp(a) v plazmě, nezávislý rizikový faktor kardiovaskulárních chorob ještě stále není nalezen.

Na rozdíl od LDL, Lp(a) se vyskytuje pouze u savců, kteří jsou na vysokém stupni vývoje (člověk a primáti) a je výlučně syntetizován jejich jaterními buňkami. Opice *Cynomolgus* mají Lp(a), které jsou podobné lidským Lp(a) včetně unikátního apolipoproteínu apo(a). Tito primáti tak poskytují experimentální možnost studia syntézy Lp(a) a role Lp(a) v atheroskleróze a tromboze. Byly selektovány primární kultury hepatocytu opice *Cynomolgus* jako testovací systém pro in vitro screening aminofosfonátových derivátů vzorce (I) na jejich schopnost ovlivnit úroveň Lp(a). Před screeningem byl tento zkušební systém potvrzen testováním s kyselinou nikotinovou a steroidními hormony jako srovnávacími látkami, o kterých je známo, že snižují Lp(a) u člověka.

Podstata vynálezu

Tento vynález se týká neočekávaného zjištění, že aminofosfonátové deriváty jsou účinné při snížení hladin plazmatického a tkáňového lipoproteínu(a). V souvislosti s tím jako první aspekt tento vynález poskytuje použití sloučeniny obecného vzorce I



(I)

ve kterém

X^1, X^2 , které mohou být stejné nebo různé, představují vodík, přímou nebo rozvětvenou alkylovou skupinu nebo alkoxy skupinu mající od 1 do 8 atomů uhlíku, hydroxyskupinu nebo nitroskupinu,

X^3 je vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,

X^4 a jeden nebo více jiných substituentů X^1 nebo X^2 může tvořit alkyldendioxylový kruh mající od 1 do 4 atomů uhlíku,

R^1, R^2 , které jsou stejné nebo různé, jsou vodík, přímá nebo rozvětvená alkylová skupina mající od 1 do 8 atomů uhlíku,

B je skupina vzorce CH_2 , CH_2-CH_2 nebo $CH=CH$,

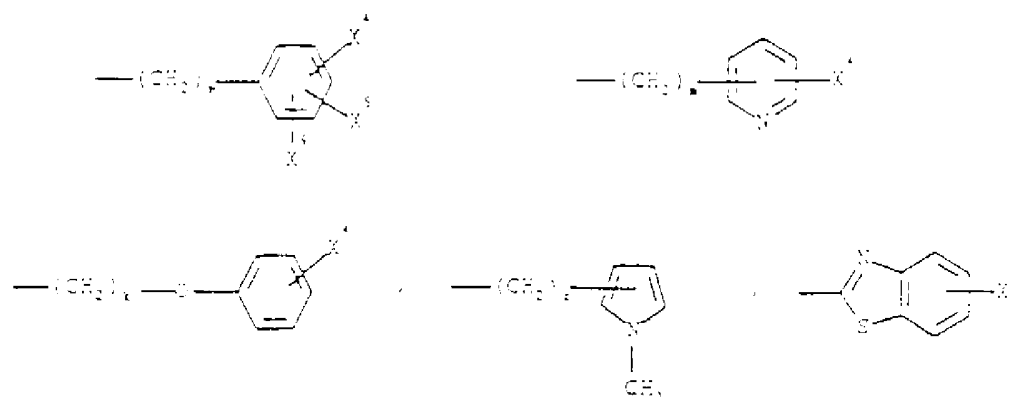
n je nula nebo jedna,

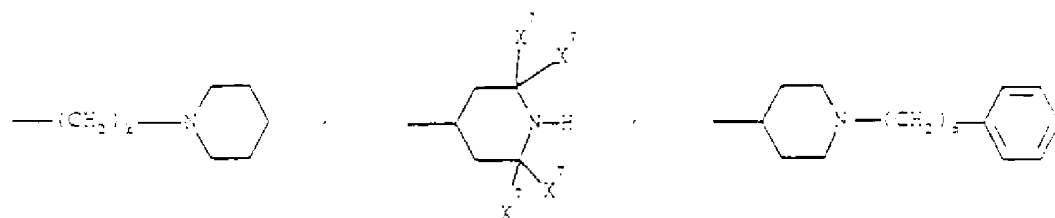
Z je vodík, přímá nebo rozvětvená alkylová skupina mající od 1 do 8 atomů uhlíku, acylová skupina R^3-CO ,

kde R^3 je alkylová skupina mající od 1 do 4 atomů uhlíku,

perfluoralkylová skupina mající od 1 do 4 atomů uhlíku,

A je vodík, skupina vzorce $CH_2-CH=CH_2$, přímá, rozvětvená nebo cyklická alkylová skupina mající od 1 do 8 atomů uhlíku, nebo je vybrána z následujících skupin:





m je 0 nebo celé číslo od 1 do 5,

X¹, X², X³, které jsou stejné nebo různé, jsou vodíkem přinášející nebo rozvětvená alkylová skupina nebo alkoxy skupiny mající od 1 do 8 atomů uhlíku, hydroxyskupina, trifluorethylová skupina, nitroskupina, aminoskupina, dimetylaminoskupina, dietylaminoskupina, atom halogenu (F, Cl, Br, I),

X¹ a X² mohou tvořit alkylidendioxylový kruh obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku,

X je vodík nebo methyl,

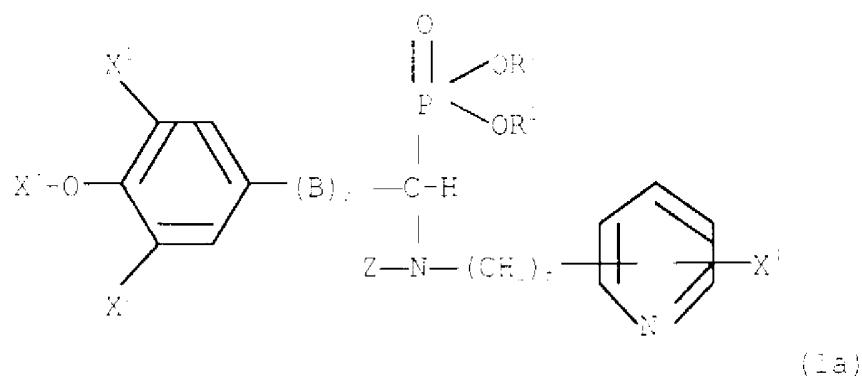
R je přímá nebo rozvětvená alkylová skupina mající od 1 do 6 atomů uhlíku, aryllová nebo aralkylová skupina mající od 6 do 9 atomů uhlíku;

nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli;

při výrobě léčebného prostředku pro snížení hladin plazmatického a tkáňového lipoproteinu(a).

Evropská patentová přihláška EP 0 559 079 A (1993) (odpovídající US patentu č. 5 424 303) popisuje sloučeniny obecného vzorce I, stejně jako jejich použití při snížení hladin cholesterolu v plazmě a peroxidů v krvi.

Ve výhodném provedení jsou sloučeninami obecného vzorce I pro použití při výrobě léčebného prostředku pro snižování plazmatického a tkáňového lipoproteinu(a) ty, které mají obecný vzorec Ia



kde

B, R¹, R, X¹, X², X³, X⁴, Z, n a m mají význam jako je výše definováno;

nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Některé sloučeniny spadající do rozsahu vzorce (Ia) jsou nové a jsou zvláště vhodné pro snížení hladin lipoproteinu(a) v plazmě a tkáni.

Jako další aspekt tento vynález proto poskytuje aminofosfonátové deriváty obecného vzorce Ia, kde:

X^1 je vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku;

X^2 je alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku;

X^3 je vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo

X^4 a jeden nebo dva další substituenty X^1 nebo X^2 mohou tvořit alkyldendioxylový kruh mající od 1 do 4 atomů uhlíku;

R^1 , R^2 , které mohou být stejné nebo odlišné, jsou vodík nebo alkylová skupina obsahující 1 až 6 atomů uhlíku;

B je skupina vzorce CH_2-CH_2 , $CH=CH$ nebo CH_2 ;

n je nula nebo 1;

Z je vodík nebo alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku;

m je celé číslo od nuly do 5;

X^5 - vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 6 atomů uhlíku, alkoxy skupina obsahující 1 až 6 atomů uhlíku nebo halogen;

a pyridylový kruh je napojen α - nebo β -atomem uhlíku kruhu na dusík (2- nebo 3-pyridyl);

nebo sul, výhodně jejich farmaceuticky přijatelnou soli s výjimkou:

diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu];

diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pikolyl)aminomethylfosfonátu];

diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)aminomethylfosfonátu];

diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-methyl-N-(3-pikolyl)aminomethylfosfonátu];

diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridylethyl)aminomethylfosfonátu] a

diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)aminomethylfosfonátu].

Účelně je X' vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, výhodněji alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, zvláště výhodně vodík, methyl nebo methoxy skupina.

Účelně je X'' alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku, výhodně alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxy skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, zvláště výhodně vodík, methyl nebo methoxy skupina.

Účelně X' a X'' představují oba alkoxy skupinu nebo jeden z X' a X'' je alkylová skupina a druhý je alkoxy skupina, nebo jeden z X' a X'' je alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku a druhý z X' a X'' je alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku.

Účelně kombinace X' a X'' zahrnují kombinaci methoxy skupiny a methoxy skupiny, methoxy skupiny a methylu, n-propylu nebo isobutylu, methylu a methylu nebo terc.-butylu.

Výhodně je X¹ vodík.

Výhodně je (B)₁ přímá vazba.

Účelně jsou R¹ a R² každý alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, výhodněji alkylová skupina obsahující 2 nebo 3 atomy uhlíku, zvláště je R¹ a R² ethyl nebo isopropyl.

Výhodně je Z vodík.

Účelně je X² vodík nebo methyl, který je výhodně na uhlíku kruhu sousedícím s dusíkem.

Výhodně je pyridylový kruh připojen β-uhlíkem kruhu na dusík (3-pyridyl).

Pojmy „alkylová skupina“ nebo „alkoxyskupina“, pokud se zde používají, zahrnují jak přímé, tak rozvětvené skupiny, například methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sek.butyl, terc.butyl atd.

Výhodně sloučeniny obecného vzorce Ia zahrnují:

diisopropyl-[α-(4-hydroxy-3-methoxy-5-methylfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát];

diisopropyl-[α-(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát];

diethyl-[α-(3-methyl-4-hydroxy-5-terc.butylfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát];

diethyl-[α-(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát] a

diethyl-[α-(3,5-dimethyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát].

Nezávisle na dříve publikované aktivitě, tento vynález se týká neočekávaného zjištění, že aminofosfonátové

deriváty obecného vzorce I jsou účinné pro snížení produkce Lp(a) primárními kulturami hepatocytů opic *Cynomolgus*. Lp(a) těchto primátů je podobný v imunologických vlastnostech lidskému Lp(a) a vyskytuje se v téměř identické frekvenci distribuce koncentrací v plazmě, viz například:

„Plasma Lipoprotein(a) Concentration is Controlled by Apolipoprotein(a) Protein Size and the Abundance of Hepatic Apo(a) mRNA in a *Cynomolgus* Monkey Model”, N. Azrolan, L. Gavish a J. Breslow; *J. Biol. Chem.*, sv. 266, str. 13866 - 13872 (1991).

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou proto tak potenciálně vhodné pro snížení Lp(a) u člověka a tak poskytují přínosné terapeutické účinky.

Tento vynález zvláště poskytuje nové terapeutické použití aminofosfonátových sloučenin obecného vzorce I jako prostředku snižujícího Lp(a). Choroby spojené se zvýšenými hladinami lipoproteinu(a) v plazmě a tkáni zahrnují například koronární srdeční chorobu, choroby periferních arterií, přerušované kulhání, trombózu, restenózu po angioplastice, extrakraniální karotidní atherosklerózu, mrtvici a atherosklerózu vyskytující se po transplantaci srdce.

Nedávno objevená aktivita aminofosfonátu obecného vzorce I snižující Lp(a) je nezávislá na jejích dříve popsaných farmakologických aktivitách, které snižují hladiny plazmatického cholesterolu a krevních peroxidů. Nedávné klinické studie ukázaly, že ani hypocholesterolemická léčiva pravastatin nebo antioxidantní léčivo probucol nemohou snižovat hladiny Lp(a) u člověka, viz například:

„Serum Lp(a) Concentrations are Unaffected by Treatment with HMGCoA Reductase Inhibitor Pravastatin: Results of a 2-Year Investigation“, H. G. Fieseler, V. W. Armstrong, E. Wieland, J. Thiery, E. Schütz, A. K. Walli a D. Seidel; Clinica Chimica Acta, sv. 204, str. 291 - 300 (1991); a „Lack of Effect of Probucol on Serum Lipoprotein(a) Levels“, A. Noma; Atherosclerosis, 79, 267 - 269 (1989).

Pro terapeutické použití jsou sloučeniny podle tohoto vynálezu obecně podávány ve standardních farmaceutických kompozicích získaných smísením s farmaceutickým nosičem vybraným s ohledem na zamýšlenou cestu podávání a standardní farmaceutickou praxí. Například mohou být podávány orálně ve formě tablet obsahujících takové excipienty jako škrob nebo laktózu, nebo v kapsuli, ovulích nebo pastiklách buď samostatně nebo ve směsi s excipienty, nebo ve formě elixírů nebo suspenzí obsahujících ochucovací a barvicí přísady. Mohou být injektovány parenterálně, například intravenózně, intramuskulárně nebo subkutánně. Pro parenterální podávání se nejlépe používají ve formě sterilního vodného roztoku, který může obsahovat jiné látky, například dostatek solí nebo glukózu k přípravě roztoku isotonického s krví. Výběr formy pro podávání stejně jako účinné dávky se budou měnit v závislosti, mimo jiné, na stavu, který bude léčen. Výběr způsobu podávání a dávkování je v rozsahu znalosti odborníka v oboru.

Sloučeniny obecného vzorce I a jejich farmaceuticky přijatelné soli, které jsou aktivní pokud jsou podávány orálně, mohou být formulovány jako kapaliny, například sirupy, suspenze nebo emulze nebo jako pevné látky, například tablety, kapsule nebo pastilky. Kapalné kompozice budou obecně sestávat ze suspenze nebo roztoku sloučeniny

nebo její farmaceuticky přijatelné soli ve vhodném kapalném nosiči nebo nosičích, například ethanolu, glycerinu, nevodném rozpouštědle, například polyethylenglykolu, olejích nebo vodě se suspendovaným léčivem, konzervovadlem, ochucovacím nebo barvicím přípravkem.

Kompozice ve formě tablety mohou být připraveny za použití vhodného farmaceutického nosiče nebo vhodných farmaceutických nosičů běžně používaných při přípravě pevných kompozic. Příklady takových nosičů zahrnují stearat hořečnatý, škrob, laktózu, sacharózu a celulózu.

Kompozice ve formě kapsulí může být připravena za použití rutinních procedur opouzdrnění. Například pelety obsahující aktivní ingredience mohou být připraveny za použití standardních nosičů a poté jsou naplněny do tvrdé želatinové kapsle; alternativně může být připravena disperze nebo suspenze za použití vhodného farmaceutického nosiče nebo vhodných farmaceutických nosičů, například vodných gumovitých látek, celulóza, silikátu nebo oleje a disperze nebo suspenze jsou poté naplněny do měkké želatinové kapsle.

Běžné parenterální kompozice sestávají z roztoku nebo suspenze sloučeniny nebo farmaceuticky přijatelné soli ve sterilním vodném nosiči nebo parenterálně přijatelném oleji, například polyethylenglykolu, polyvinylpyrrolidonu, lecithinu, arašídovém oleji nebo sezamovém oleji. Alternativně může být roztok lyofilizován a poté rekonstituován ve vhodném roztoku přímo před podáváním.

Obvyklá kompozice pro čípek zahrnuje sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, která je aktivní, když je podávána touto cestou, s pojivovým a/nebo lubrikačním přípravkem, jako jsou

polymerní glykoly, želatiny nebo kakaové máslo nebo jiné syntetické nebo rostlinné vosky nebo tuky s nízkou teplotou tání.

Výhodně je kompozice v jednotné dávkové formě, jako je tableta nebo kapsle.

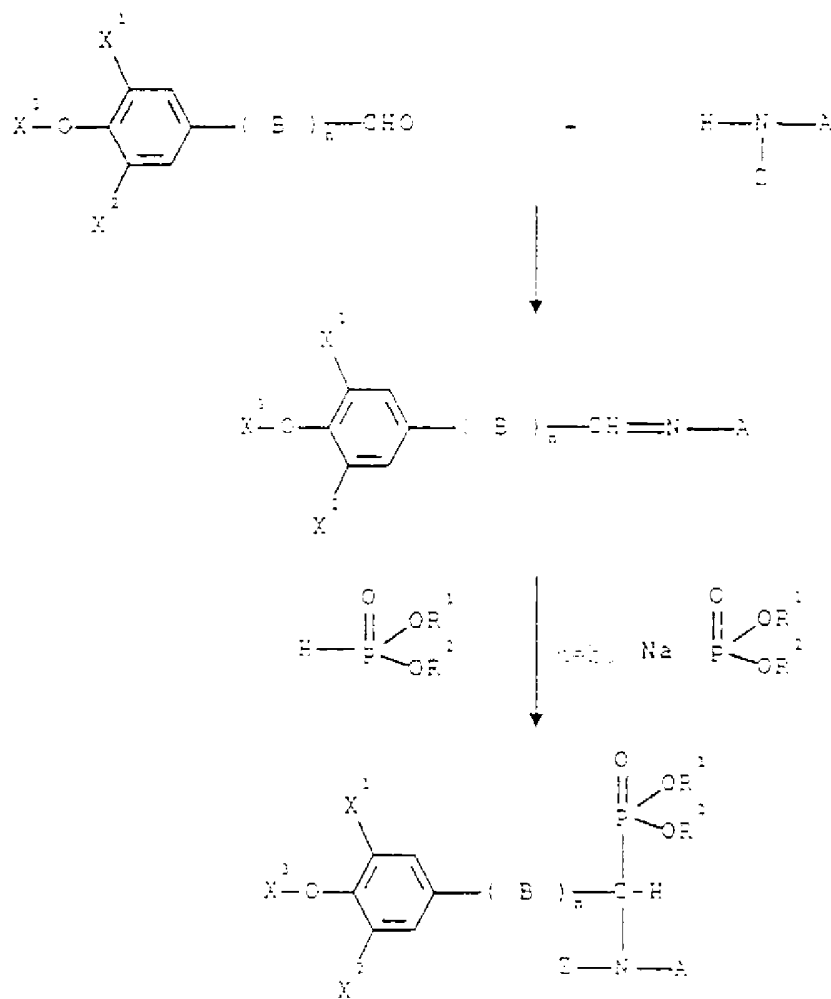
Každá dávková jednotka pro orální podávání obsahuje výhodně od 1 do 250 mg (a pro parenterální podávání obsahuje výhodně od 0,1 do 25 mg) sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli vztaženo na volnou bázi.

Farmaceuticky přijatelné sloučeniny podle tohoto vynálezu budou normálně podávány subjektu v denním režimu podávání. Pro dospělého pacienta to může být například orální dávka mezi 1 mg a 500 mg, výhodně mezi 1 mg a 250 mg, nebo intravenózní, subkutánní nebo intramuskulární dávka mezi 0,1 mg a 100 mg, výhodně mezi 0,1 mg a 25 mg, sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli, počítáno jako volná báze, přičemž sloučenina je podávána jednou až čtyřikrát denně.

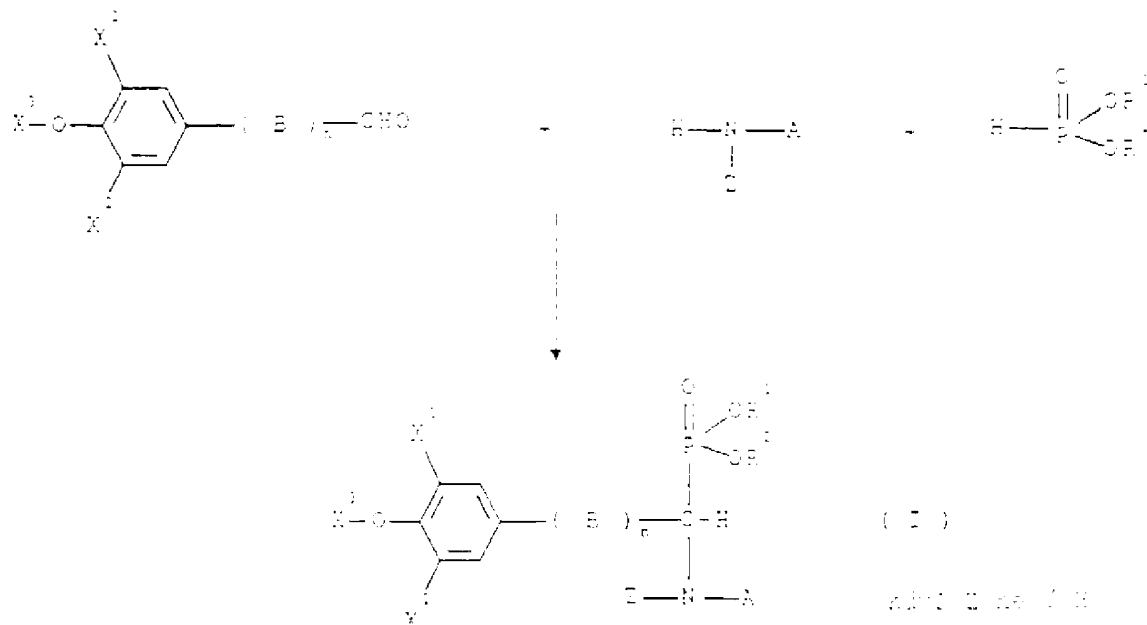
Sloučeniny obecného vzorce I mohou být připraveny podle způsobu popsaných v Evropské patentové přihlášce EP 0 559 679-A (1993) (odpovídající US patentu č. 5 424 303). Tento způsob, který má dvě varianty je uveden v dále zařazeném obecném schématu.

Obečné schéma syntézy

Varianta 1



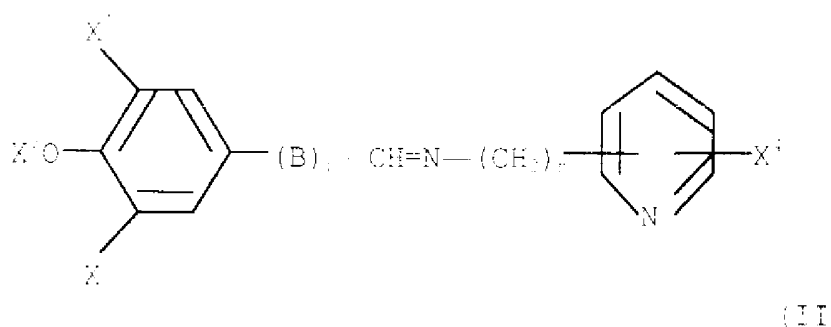
Varianta 2



Varianta 1 je použita, kdy Z je vodík, to je když výchozí sloučeninou je primární amin. Stručně uvedeno, aminofosfonáty obecného vzorce I jsou připraveny nukleofilní adicí dialkylfosfitu nebo jeho sodné soli získané in situ reakcí dialkylfosfitu a natriumhydridu s iminem získaným kondenzací vhodného aldehydu a primárního aminu.

Varianta 2 je použita, když Z není vodík, to je když výchozí sloučeninou je sekundární amin. V tomto případě jsou aminofosfonáty obecného vzorce I připraveny reakcí ekvimolárních množství odpovídajícího aldehydu a sekundárního aminu a dialkylfosfitu. Reakce je výhodně provedena v přítomnosti kyseliny p-toluensulfonové jako katalyzátoru v uhlovodíkovém rozpouštědle, jako je benzen nebo toluen, za současné eliminace vody, například za použití Dean-Starkova nástavce.

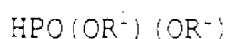
Nové sloučeniny obecného vzorce Ia, ve kterých je Z vodík, mohou být připraveny způsobem, který zahrnuje reakci iminu obecného vzorce II



ve kterém

B, X', X'', X', X'', m a n mají význam jako je definován výše;

s fosfitovou sloučeninou obecného vzorce III



(III)

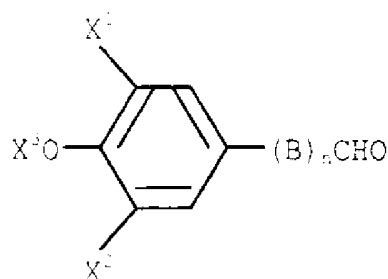
ve kterém

R^1 a R^2 mají význam jako je definován výše,

nebo s jejím trialkylsilylovým derivátem, výhodně tri-methylsilylfosfitem, nebo její kovovou solí, například sodnou solí, vytvořenou in situ reakcí sloučeniny obecného vzorce III s vhodnou bází, například natriumhydridem nebo ethoxidem nebo methoxidem sodným.

Reakce může být provedena v přítomnosti nebo nepřítomnosti katalyzátoru. Vhodné katalyzátory zahrnují amin jako je diethylamin nebo triethylamin. Reakce může být provedena bez nebo v přítomnosti rozpouštědla. Vhodná rozpouštědla zahrnují petrolether, benzen, toluen, diethylether, tetrahydrofuran a 1,2-dimethoxyethan. Vhodné reakční teploty jsou v rozmezí od 30 až do 140 °C.

Iminová sloučenina obecného vzorce II může být získána kondenzací aldehydové sloučeniny obecného vzorce V



(V)

ve kterém

B , X^1 , X^2 , X^3 a n mají význam jako je definován výše;

s primárním aminem obecného vzorce VI



(VI)

ve kterém

A má význam jako je definován výše;

za podmínek tvorby iminu.

Výhodně může být kondenzace provedena s nebo bez katalyzátoru v rozpouštědle jako je ether, tetrahydrofuran, benzen, toluen nebo ethanol. Vhodné katalyzátory zahrnují molekulární síto, kyselinu, jako je ledová kyselina octová, kyselina p-toluensulfonová, thionylchlorid, chlorid titaničitý, etherát fluoridu boritého, nebo báze, jako je uhličitán draselný. Reakce je vhodně prováděna při teplotě v rozmezí od 0 °C až do teploty varu použitého rozpouštědla. U méně reaktivních aminů/aldehydů může být reakce vhodně prováděna pod Dean-Starkovým nástavcem.

Nové sloučeniny obecného vzorce Ia, ve kterých Z není vodík, mohou být připraveny způsobem, který zahrnuje reakci ekvimolárního množství aldehydu obecného vzorce V, sekundárního aminu obecného vzorce VII



(VII)

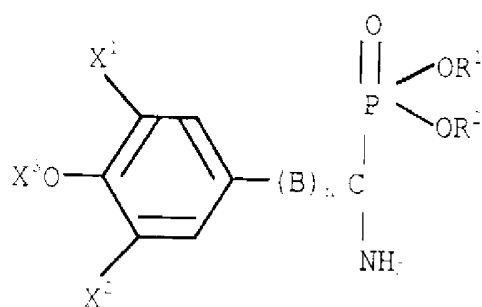
ve kterém

Z je alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a

A má význam jako je definován výše;

a fosfitu obecného vzorce III, výhodně v přítomnosti kyseliny p-toluensulfonové jako katalyzátoru, v uhlovodíkovém rozpouštědle, jako je petrolether, benzen, toluen nebo xylen, při teplotě mezi teplotou místnosti a teplotou varu použitého rozpouštědle a za současné eliminace vody, například za použití Dean-Starkova nastavce.

Sloučeniny obecného vzorce Ia, ve kterém m není nula, mohou být připraveny také způsobem, který zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce VIII

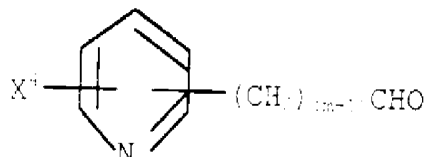


(VIII)

ve kterém

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n mají význam jako je definován výše;

s aldehydem obecného vzorce IX



(IX)

ve kterém

m je celé číslo od 1 do 5 a

X¹ má význam jako je definován výše;

za reduktivních aminačních podmínek.

Takové vhodné podmínky zahrnují provádění reakce v přítomnosti natriumkyanborhydridu v alkoholickém rozpouštědle, výhodně methanolu, při pH mezi 3 až 6 a při teplotě mezi 0 °C a 25 °C.

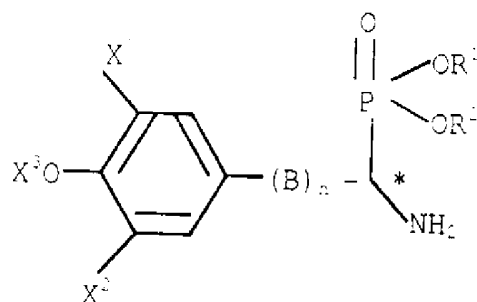
Sloučenina obecného vzorce VIII může být získána podle výše popsaného způsobu pro sloučeniny obecného vzorce Ia z aldehydu obecného vzorce V, sekundárního aminu obecného vzorce VII, ve kterém Z je chránicí skupina, která může být odstraněna hydrogenolýzou, jako je například α -substituovaný benzyl nebo benzyloxykarbonyl, a fosfitu obecného vzorce III. Tak se tvoří meziprodukt, který je poté podroben hydrogenolýze za standardních podmínek, za vzniku sloučeniny obecného vzorce VIII.

Přes svou aminovou funkční skupinu může amino-fosfonátový ester obecného vzorce I tvořit soli s anorganickými kyselinami, jako je HCl, H₂SO₄, nebo organickými kyselinami, jako je kyselina oxalová, maleinová, sulfonová atd. Příklad hydrochloridové soli amino-fosfonátu obecného vzorce I je uveden (v příkladu 5). Všechny tyto soli jsou integrální součástí tohoto vynálezu.

Sloučeniny obecného vzorce I jsou racemáty, neboť mají alespoň jedno chirální centrum, kterým je atom uhlíku v poloze α k fosfonátové skupině. Sloučeniny obecného vzorce I tak existují ve dvou enantiomerních formách. Racemická směs (50 % každého enantiomeru) a čisté enantiomery jsou zahrnuty v rozsahu tohoto vynálezu.

V některých případech může být žádoucí rozdělit tyto enantiomery.

Jako další aspekt tento vynález poskytuje způsob enantiomeriní syntézy derivátu obecného vzorce I, který zahrnuje reakci buď (+)- nebo (-)-enantiomeru α -substituovaného aminomethylfosfonátu obecného vzorce X



(X)

ve kterém

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n mají význam jako je definován výše;

s aldehydem obecného vzorce XI



(XI)

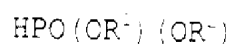
ve kterém

R³ má význam jako je definován výše;

za redukčních podmínek.

Takové vhodné podmínky zahrnují provádění reakce v přítomnosti natriumkyanborhydridu v alkoholickém rozpouštědle, výhodně methanolu, při pH mezi 3 až 6 a při teplotě mezi 0 °C a 25 °C.

Klíčový α -substituovaný primární aminomethylfosfonát obecného vzorce X je získán reakcí aldehydu obecného vzorce V, jak je výše definován, s (+)- nebo (-)- α -methylbenzylaminem, kterou se tvoří meziproduct imin, který je poté podroben reakci s fosfitem, esterem obecného vzorce



za vzniku směsi diastereoisomerů, které mohou být odděleny konvenčními technikami, například frakční krystalizací nebo chromatografií. K odstranění benzylových skupin z dusíku může být poté použito hydrogenolýzy, čímž vznikne α -substituovaný primární aminomethylfosfonát obecného vzorce X. Tento přístup je ilustrován přípravou enantiomerů sloučenin č. 7 a 15 z tabulky 1. Alternativně může být štěpení aminofosfonátových racemátů provedena preparativní chirální chromatografií, zvláště chirální vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Experimentální podmínky pro chromatografickou separaci enantiomerní sloučeniny č. 20 jsou uvedeny. U libovolné separační metody může být posouzena konečná dosažená čistota enantiomerů měřením specifické rotace oddělených isomerů.

Struktura sloučenin obecného vzorce I byla určena jejich elementární analýzou, jejich infračerveným (IČ), hmotnostním spektrem (MS) a nukleárním magnetickým resonančním spektrem (NMR). Čistota sloučenin byla zkontrolována tenkovrstevnou, plynovou nebo vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií.

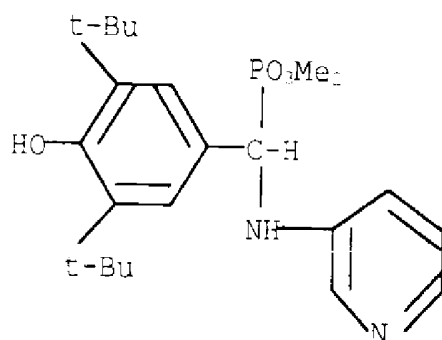
Vynález je dále popsán v následujících příkladech provedení, které jsou určeny pouze k ilustraci vynálezu, bez jakéhokoliv omezení jeho rozsahu. V tabulkách je n

normální, i je iso, s je sekundární a t je terciární.
 V popisu u NMR spekter je s singlet, d dublet, t triplet a m multiplet. TsOH je monohydrát kyseliny p-toluensulfonové.
 Teploty byly zaznamenány ve stupních Celsia a teploty tání nebyly korigovány. Při měření optické aktivity je enantiomer, který otáčí rovinu polarizovaného světla do prava nazýván dextrorotační a je označován (+) nebo (D). Naproti tomu jako levotočivý enantiomer se definuje enantiomer, který otáčí rovinu polarizovaného světla do leva a je označován (-) nebo (L). Pokud není uvedeno jinak, fyzikální konstanty a biologická data uváděná pro aminofosfonáty obecného vzorce I se týkají racemátů.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Dimethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát]



Směs 50 g (0,206 mol) 3,5-di-terc.butyl-4-hydroxybenzaldehydu a 20,3 g (2,16 mol) 3-aminopyridinu rozpuštěného v 300 ml toluenu a katalytického množství kyseliny p-toluensulfonové (asi 50 mg) obsažených v baňce napojené na Dean-Starkuv nástavec byla refluxována po dobu 17 hodin. Roztok byl odpařen do sucha, čímž byla získána

pevná látka, která byla přečištěna rekrystalizací z ligroinu: teplota tání = 125 až 130 °C, $\nu_{\text{max}}(\text{KBr})$: 1590 cm^{-1} : CH=N.

Dimethylfosfit (63,8 g, 0,58 mol) byl přidán k 60 g (0,19 mol) dříve popsaného iminu rozpuštěného v 230 ml tetrahydrofuranu a směs byla refluxována po dobu 6 hodin. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek byl přečištěn kolonovou chromatografií (SiO_2 , 9/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$). Rekrystalizace ze směsi methyl-terc.butylether/petrolether dala bílou pevnou látku, teplota tání = 168 až 170 °C.

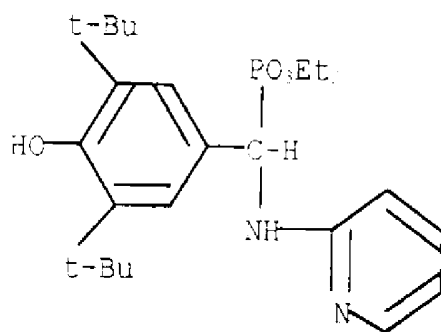
$\nu_{\text{max}}(\text{KBr})$ = 3300 cm^{-1} : NH, 1240: P=O, 1030: P-O-C.

NMR (CDCl_3): δ = 8,06, 7,96, 7,4 a 6,9 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 7,2 (d, $J_{\text{H-H}} = 2$ Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,24 (s, 1H): OH, 4,66 (d, $J_{\text{H-H}} = 22$ Hz, 1H): CH- PO_3Me_2 , 4,75 - 4,68 (m, 1H): NH, 3,74 a 3,39 = (dva d, $J = 11$ Hz): P-O-CH $_3$, 1,42 (s, 18 H): terc.-Bu.

MS: m/e = 419: $\text{M}^+ - 1$, 311 (100 %): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Me}_2$.

Příklad 2

Diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridyl)aminomethylfosfonát]



Způsob popsáný v příkladu 1 byl proveden za použití 2-aminopyridinu jako aminu a diethylfosfitu jako fosfonátového činidla. Titulní sloučenina byla přečištěna kolonovou chromatografií (95/5 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), čímž byla získána pevná látka (61 %); teplota tání = 116 až 118 °C (AcOEt-ligroin).

MS (m/e) = 448: M^+ , 311: $\text{M}^+ - \text{PO}_2\text{Et}_2$, 78 (100 %): $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$.

NMR (CDCl_3) δ = 8,09, 7,38 a 6,57 a 6,44 (4m, 1H každý):

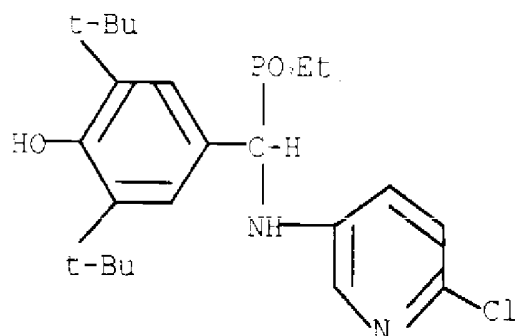
aromatický H, 2-pyridyl, 7,28 (d, $J_{\text{H-H}} = 2$ Hz, 2H):

aromatický H, substituovaný fenyl, 5,46 (dd, $J = 9$ a 22 Hz, 1H): $\text{CH}-\text{PO}_2\text{Et}_2$, 5,3 (m, 1H): $\text{N}-\text{H}$, 4,14 - 3,66 (3m, 4H

celkově): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, 1,42 (s, 18H): terc.-Bu, 1,21 a 1,16 (2t, 3H každý): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$.

Příklad 3

Diethyl- $\{\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-[5-(2-chlorpyridyl)]aminomethylfosfonát]



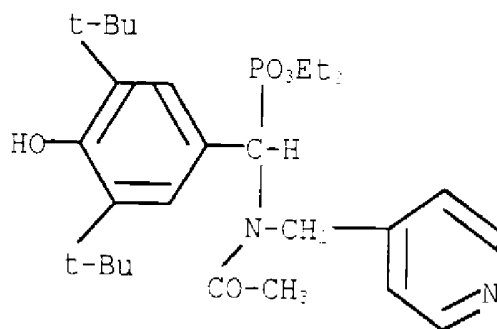
Způsob popsáný v příkladu 1 byl proveden za použití 5-amino-2-chlorpyridinu jako aminu a diethylfosfitu jako fosfonátového činidla. Titulní sloučenina byla získána v 50% výtěžku po kolonové chromatografii (98/2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) a tritrací v petroletheru; teplota tání = 124 až 126 °C.

MS (m/e) = 483: $\text{M}^+ + 1$, 345 (100%): 347 (30%): $\text{M}^+ - \text{PO}_2\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): δ = 7,78, 7,95 a 6,99 (3H): aromatický H, 3-pyridyl, 7,18 (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,22 (s, 1H): OH, 4,83 (t, J = 8 Hz): N-H, 4,57 (dd, J = 7,5 a 22,5 Hz): $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, 4,1, 3,86 a 3,56 (3m, 4H): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$, 1,40 (s, 18H): t-Bu, 1,28 a 1,05 (2t, J = 7 Hz): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_2$.

Příklad 4

Diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-acetyl-N-(4-pikolyl)aminomethylfosfonát]

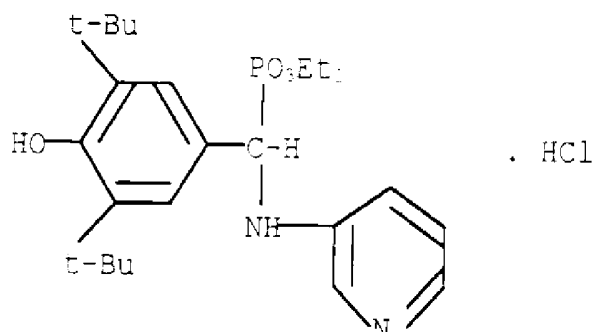


Směs acetanhydridu (1,4 g, 14 mmol), diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)aminomethylfosfonátu] (6 g, 13 mmol) a triethylaminu (1,9 ml, 14 mmol) v 20 ml toluenu byla refluxována po dobu 16 hodin. Reakční směs byla extrahována roztokem chloridu sodného, vysušena a odpařena do sucha. Odparek byl rekrystalizován ze směsi dichlormethanu a petroletheru, čímž bylo získáno 3,7 g (57% výtěžek) titulní sloučeniny, teplota tání = 160 až 162 °C.

MS (m/e) = 504: M^+ , 461: $\text{M}^+ - \text{COCH}_3$, 367: $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$, 325 (100%): $\text{M}^+ + 1 - \text{PO}_3\text{Et}_2 - \text{COCH}_3$.

Příklad 5

Hydrochloridová sůl diethyl-[α -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl, aminomethylfosfonátu]



Diethyl-[α -(3,5-di-terc.-butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát] (3 g, 6,7 mmol) byl rozpuštěn za slabého ohřívání v 60 ml toluenu a výsledná směs byla nasycena plynným chlorovodíkem. Po 16 hodinách při 0 °C byla směs odpařena do sucha a odparek byl rekrystalizován z ethanolu; teplota tání = 193 až 194 °C.

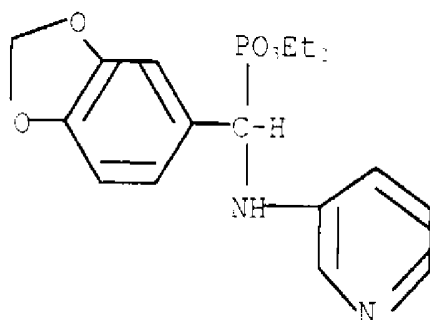
Elementární analýza pro $C_{24}H_{35}ClN_2O_4P$:

vypočteno (%): C 59,43 H 7,90 Cl 7,31 N 5,78 P 6,39

nalezeno (%): C 59,53 H 8,10 Cl 7,02 N 5,72 P 6,21

Příklad 6

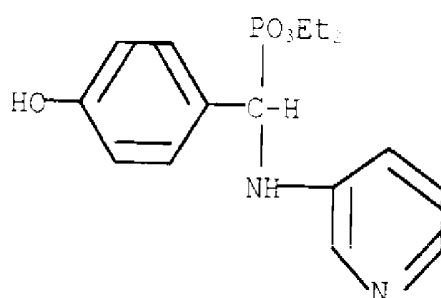
Diethyl-[α -(3,4-methylenedioxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonát]



Postupovalo se způsobem popsaným v příkladu 3.
 Titulní sloučenina byla přečištěna kolonovou chromatografií
 (9/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); 60% výtěžnost,
 teplota tání = 98 až 99 °C, $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$.
 IČ (KBr) = 1240 cm^{-1} : $\text{P}=\text{O}$, 1030: $\text{P}-\text{O}-\text{C}$.
 MS (m/e) = 365: $\text{M}^+ + 1$, 227 (100%): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.
 NMR (CDCl_3): δ = 8,1, 7,95, 7,05 a 6,95 (4m, 1H každý):
 aromatický H, 3-pyridyl, 6,90, 6,85, 6,75 (3m, 3H):
 aromatický H, substituovaný fenyl, 5,95 (2H): $=\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$,
 4,86 (d x d, 1H, J = 8 a 10 Hz): $\text{N}-\text{H}$, 4,63 (d x d, 1H, J =
 8 a 24 Hz): $\text{CH}-\text{PO}_3\text{Et}_2$, 4,18 až 3,70 (3m, 4H celkově): $\text{P}-\text{O}-$
 CH_2-CH_3 , 1,31 a 1,16: (2t, J = 7 Hz): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$.

Příklad 7

Diethyl- $[\alpha$ -(4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethyl-
 fosfonát]



Při teplotě místnosti byl podroben 4-hydroxybenz-
 aldehyd (6 g, 49 mmol) reakci s 3-aminopyridinem (4,5 g, 52
 mmol) v 30 ml tetrahydrofuranu, čímž bylo získáno 9,9 g
 světle hnědé pevné látky. Takto získaný imin (5,9 g, 30
 mmol) byl rozpuštěn v 50 ml tetrahydrofuranu, ve dvou
 dávkách byl přidán diethylfosfit, první na začátku reakce a
 druhá po 6 hodinách refluxování, (celkové množství: 8,2 g,
 60 mmol). Reakční směs byla refluxována přes noc. Filtrace

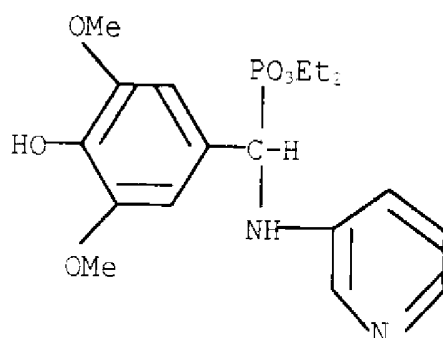
vzniklé sraženiny dala 7,5 g (75 %) žlutohnědé pevné látky, teplota tání = 210 až 212 °C (ethanol).

MS (m/e) = 337: $M^+ + 1$, 199 (100%): $M^+ - PO_3Et_2$.

NMR (DMSO- d_6): δ = 9,35 (s, 1H): OH, 8,15, 7,7, 7,1 a 7,0 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,5 (d x d, 1H): N-H, 7,3 a 6,7 (2m, 2H každý): aromatický H, 4-hydroxyfenyl, 4,93 (d x d, 1H): $\underline{CH-PO_3Et_2}$, 4,1 až 3,6 (3m, 4H celkově): P-O- $\underline{CH_2-CH_3}$, 1,15 a 1,02: (2t, 3H každý): P-O- $\underline{CH_2-CH_3}$.

Příklad 8

Diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonát]



Směs 3 g (16,4 mmol) syringaldehydu a 1,63 g (17,3 mmol) 3-aminopyridinu rozpuštěného v 10 ml toluenu a katalytického množství kyseliny p-toluensulfonové (asi 5 mg) obsažená v baňce napojené na Dean-Starkův nástavec byla refluxována po dobu 17 hodin. Roztok byl odpařen do sucha, čímž bylo získáno 4,2 g (100 %) surového iminu. Byl přidán diethylfosfit (4,8 g, 35 mmol) k 4,2 g (17,3 mmol) dříve popsaného iminu rozpuštěného v 10 ml tetrahydrofuranu a směs byla refluxována po dobu 7 hodin. Bylo přidáno další množství diethylfosfitu (4,8 g, 35 mmol) a směs byla refluxována přes noc (celková doba reakce 17 hodin).

Rozpouštědlo a přebytek diethylfosfitu byly odpařeny a odparek byl rekrystalizován ze směsi ethanolu a dichlormethanu, čímž bylo získáno 4,2 g (61 %) bílé pevné látky, teplota tání 181 až 183 °C.

IO (KBr) = 1240 cm^{-1} : P=O a 1030: P-O-C.

MS (m/e) = 397: M^+ +1, 259 (100%): M^+ - PO_3Et_2 .

NMR (CDCl_3): δ = 8,08, 7,98, 7,04 a 6,34 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,69 (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (široký, 1H): OH, 4,84 (d x d, 1H, J = 7 a 10 Hz): N-H, 4,62 (d x d, 1H, J = 7 a 23 Hz): $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, 4,18 - 3,65 (3m, 4H celkově): P-O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, 3,86 (s, 6H): OCH_3 , 1,31 a 1,16: (2t, J = 7 Hz): P-O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$.

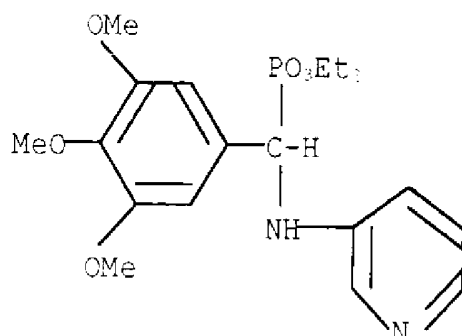
Elementární analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_6\text{P}$:

vypočteno (%): C 54,54 H 6,36 N 7,07 P 7,81

nalezeno (%): C 54,50 H 6,38 N 6,99 P 7,65

Příklad 9

Diethyl- $[\alpha$ -(3,4,5-trimethoxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonát]



Směs 3,4,5-trimethoxybenzaldehydu (10 g, 51 mmol), 3-aminopyridinu (4,8 g, 51 mmol) a katalytického množství TsOH v 50 ml toluenu byla refluxována po dobu 16 hodin v baňce napojené na Dean-Starkův nástavec. Odpaření toluenu

15.11.98

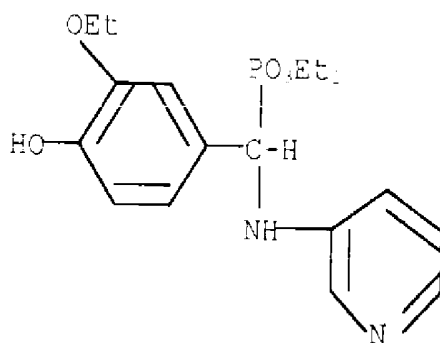
dalo 12,9 g (93 %) surového iminu, který byl použit přímo v další reakci. Směs obsahující imin 16 g, 22 mmol, a diethylfosfit (6,1 g přidaného na začátku a 6,1 g po 4 hodinách, celkové množství 12,2 g, 88 mmol) v 50 ml tetrahydrofuranu byla refluxována 8 hodin. Odparek po odpaření tetrahydrofuranu a přebytku HPO_3Et_2 byl triturován v petroletheru, čímž bylo získáno 7,12 g (79 %) bílé pevné látky, teplota tání 135 až 137 °C.

MS (m/e) = 410: M^+ , 273 (100%): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): δ = 8,1, 8,0, 7,05 a 6,85 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,69 a 6,68 (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 4,86 (d x d, 1H, J = 8 a 10 Hz): N-H, 4,63 (d x d, 1H, J = 7 a 23 Hz): $\text{CH}-\text{PO}_3\text{Et}_2$, 4,18 - 3,70 (3m, 4H celkově): P-O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, 3,86 (dvě s, 9H): OCH_3 , 1,31 a 1,16: (2t, J = 7 Hz): P-O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$.

Příklad 10

Diethyl-[α -(3-ethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonát]



Směs 50 ml toluenového roztoku obsahujícího 3-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyd (10 g, 60 mmol), 3-aminopyridin (5,6 g, 60 mmol) a 50 mg TsOH umístěná v baňce napojené na Dean-Starkův nástavec byla refluxována po dobu 4 hodin, čímž bylo získáno 14,62 g (95 %) odpovídajícího iminu.

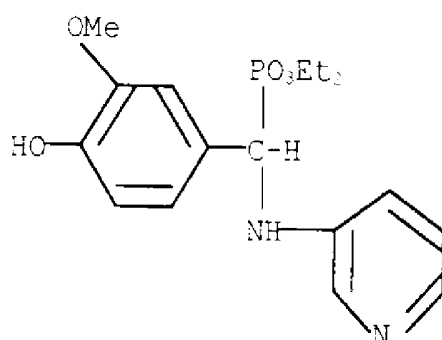
K suspenzi natriumhydridu (1,19 g 60% směsi, 30 mmol) v 20 ml suchého tetrahydrofuranu byl přidán HPO_3Et_2 (9,12 g, 66 mmol) pod dusíkem a výsledná směs byla míchána do té doby, dokud se původní zakalená suspenze zcela nevyjasnila. K tomuto roztoku NaPO_3Et_2 byl přidán výše uvedený imin (8 g, 33 mmol) rozpuštěný v 10 ml tetrahydrofuranu a výsledná roztok byl refluxován po dobu 2 hodin. Tetrahydrofuran byl odpařen a odparek byl rozdělen mezi vodu a dichlormethan. Odpaření organické fáze do sucha dalo 3,1 g bílé pevné látky, teplota tání 184 až 187 °C.

MS (m/e) = 380: M^+ , 243 (100%): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (DMSO-d_6): δ = 8,9 (s, 1H): OH, 8,15, 7,3, 7,0 a 6,9 (1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 7,1 (m, 2H) a 6,68 (d, J = 8 Hz, 1H): aromatický H, substituovaný fenyl, 6,5 (d x d, 1H, J = 6 a 10 Hz): NH, 4,92 (d x d, J = 10 a 24 Hz): $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, 4,05 - 3,6 (4m, 6H celkově): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$ a $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$, 1,29 (t, J = 7 Hz, 3H), 1,16 a 1,04 (2t, J = 7 Hz, 3H každý): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$.

Příklad 11

Diethyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonát]



Postupovalo se způsobem popsaným v příkladu 10 za použití 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehydu jako výchozího

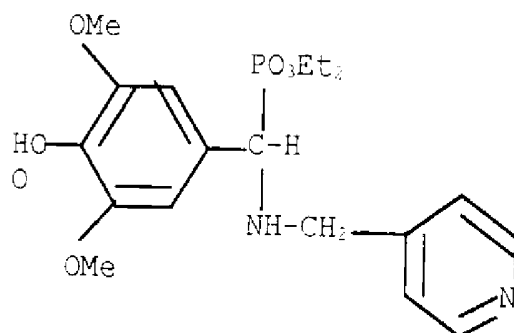
materiálu. Titulní sloučenina je bílá pevná látka, teplota tání 170 až 173 °C.

MS (m/e) = 366: M⁺, 229: M⁺ - PO₃Et₂.

NMR (DMSO-d₆): δ = 8,9 (s, 1H): OH, 8,15, 7,75, 7,0 a 6,3 (4m, 4H): aromatický H, 3-pyridyl, 7,1 (m, 2H) a 6,7 (d, J = 8 Hz, 1H): aromatický H, fenyl, 6,5 (d x d, J = 6 a 10 Hz): NH, 4,92 (d x d, J = 10 a 24 Hz): CH-PO₃Et₂, 4,05 - 3,6 (3m, 4H celkově): P-O-CH₂-CH₃, 3,72 (s, 3H): O-CH₃, 1,17 a 1,4 (2t, J = 7 Hz, 6H): P-O-CH₂-CH₃.

Příklad 12

Diethyl-[α-(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikoly)-aminomethylfosfonát]



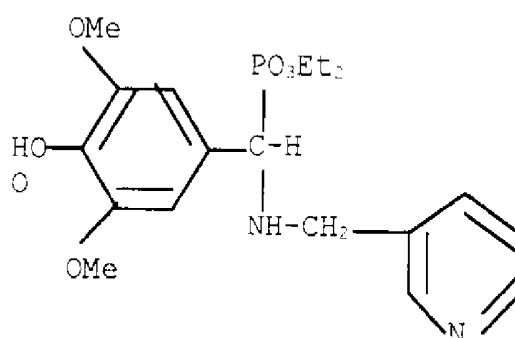
Roztok 2,5 g (13,7 mmol) syringaldehydu a 1,6 g (14,4 mmol) 4-pikolyaminu rozpuštěného v 100 ml toluenu obsažený v baňce napojené na Dean-Starkův nástavec byl refluxován po dobu 3 hodin. Toluén byl odpařen za vakua, poté byl odparek rozpuštěn v 10 ml tetrahydrofuranu a zahříván s 5,1 g (36,8 mmol) diethylfosfitu po dobu 6 hodin. Tetrahydrofuran byl odpařen a odparek byl přečištěn kolonovou chromatografií (SiO₂, 95/5 CHCl₃/MeOH). Rekrytalizace ve směsi dichlormethanu a petroletheru dala 3,7 g (45 %) pevné látky, teplota tání = 124 až 126 °C.

MS (m/e) = 410: M⁺, 273: M⁺ - PO₃Et₂.

NMR (CDCl_3): $\delta = 8,55$ a $7,22$ (2m, 4H): aromatický H, 4-pikolyl, $6,75$ (d, $J = 2$ Hz, 2H): aromatický H, fenyl, $4,15 - 3,77$ (několik m, 5H): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$ a $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, $3,89$ (s, 6H): O-CH_3 , $3,82$ a $3,62$ (2d, $J = 14$ Hz): $\text{NH-CH}_2\text{-Py}$, $1,33$ a $1,16$ (2t, $J = 7$ Hz, 6H): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$.

Příklad 13

Diethyl- $[\alpha$ -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)-aminomethylfosfonát]



Postupuje se způsobem popsaným v příkladu 12 byl zopakován s použitím 3-pikolylaminu jako výchozího materiálu. Titulní sloučenina byla přečištěna kolonovou chromatografií (9/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), čímž vznikl hustý žlutý olej. Rekrystalizace ve směsi dichlormethanu a petroletheru dala žlutohnědou pevnou látku, teplota tání = 99 až 101 °C.

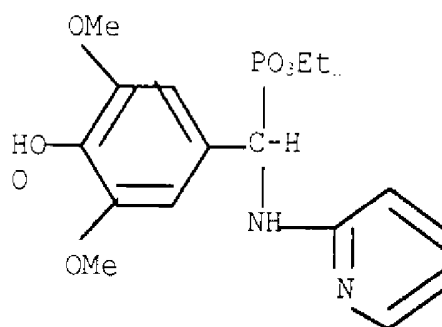
MS (m/e) = 410 : M^+ , 273 : $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): $\delta = 8,51$, $8,50$, $7,64$ a $7,25$ (4m, 4H): aromatický H, 3-pikolyl, $6,65$ (d, $J = 2$ Hz, 2H): aromatický H, fenyl, $7,75$ (široký, 1H): OH, $4,15 - 3,75$ (několik m, 5H): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$ a $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, $3,9$ (s, 6H): O-CH_3 , $3,82$ a $3,62$ (2d, $J = 14$ Hz, 2H): $\text{NH-CH}_2\text{-Py}$, $1,31$ a $1,16$ (2t, $J = 7$ Hz, 6H): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$.

15.07.98

Příklad 14

Diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridyl)-aminomethylfosfonát]



Směs 3,64 g (20 mmol) syringaldehydu a 1,88 g (20 mmol) 2-aminopyridinu, rozpuštěná v 20 ml toluenu, a katalytické množství TsOH obsažené v baňce spojené s Dean-Starkovým nástavcem byla refluxována po dobu 24 hodin. Roztok byl odpařen do sucha, čímž bylo získáno 5,2 g (100 %) surového iminu.

K 3,6 g (14 mmol) výše uvedeného iminu rozpuštěného v 25 ml tetrahydrofuranu byl přidán diethylfosfit (5,8 g, 42 mmol) a směs byla refluxována po dobu 20 hodin. Rozpouštědlo a přebytek diisopropylfosfitu byly odpařeny a odparek byl rekrystalován z ethanolu, čímž bylo získáno 4,2 g (76 %) bílé pevné látky, teplota tání = 163 až 165 °C.

IČ (KBr) = 1240⁻¹: P=O a 1030: P-O-C.

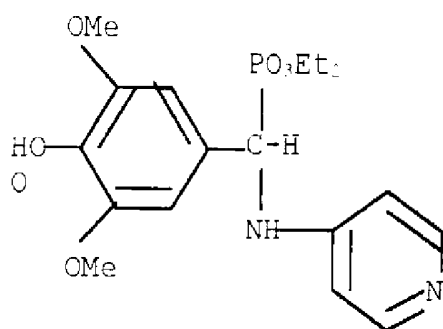
MS (m/e) = 397: M⁺, -1, 259 (100 %): M⁺ - PO₃Et₂.

NMR (CDCl₃): δ = 8,08, 7,37, 6,60 a 6,41 (4m, 1H každý): aromatický H, 2-pyridyl, 6,76 (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,6 (s, 1H): OH, 5,39 (m, 1H): N-H, 5,37 (d x d, 1H, J = 9 a 28 Hz): CH-PO₃Et₂, 4,18 - 3,69

(3m, 4H celkově): P-O-CH₂-CH₃, 3,87 (s, 6H): OCH₃, 1,24 a 1,15 (2t, J = 7 Hz): P-O-CH₂-CH₃.

Příklad 15

Diethyl-[α-(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pyridyl)-aminomethylfosfonát]



25 ml toluenového roztoku obsahujícího syringaldehyd (3,64 g, 20 mmol), 4-aminopyridin (1,9 g, 20 mmol) a 5 mg TsOH umístěného do baňky napojené na Dean-Starkův nástavec bylo refluxováno po dobu 48 hodin, čímž bylo získáno 5,0 g (95 %) odpovídajícího iminu.

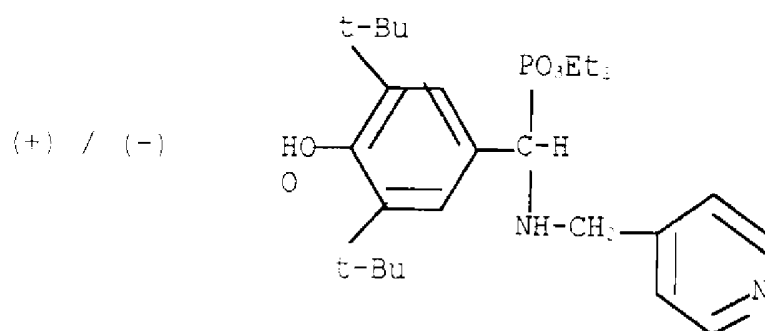
K suspenzi natriumhydridu (0,87 g 60% směsi, 20 mmol) v 25 ml suchého tetrahydrofuranu byl přidán HPO₃Et₂ (4,14 g, 30 mmol) pod dusíkem a výsledná směs byla míchána, dokud se původní zakalená suspenze úplně nevyjasnila. K tomuto roztoku NaPO₃Et₂ byl přidán výše uvedený imin (2,6 g, 10 mmol) rozpuštěný v 5 ml tetrahydrofuranu a výsledný roztok byl refluxován po dobu 2 hodin. Tetrahydrofuran byl odpařen a odparek byl rozdělen mezi vodu a dichlormethan. Odpaření a vysušení organické fáze dalo bílou pevnou látku, která byla rekrystalizována z ethanolu (1,34 g, 45 %; teplota tání 172 až 174 °C).

MS (m/e) = 396: M⁺, 259 (100 %): M⁺ - PO₃Et₂.

NMR (CDCl_3): $\delta = 8,18, 8,16, 6,48$ a $6,46$ (4m, 1H každý): aromatický H, 4-pyridyl, 6,67 (d, $J = 2$ Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,27 (d x d, 1H, $J = 7$ a 10 Hz): N-H, 4,66 (d x d, 1H, $J = 7$ a 23 Hz): $\text{CH-PO}_3\text{Et}_2$, 4,18 - 3,60 (3m, 4H celkově): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$, 3,87 (s, 6H): OCH_3 , 1,30 a 1,15 (2t, $J = 7$ Hz): $\text{P-O-CH}_2\text{-CH}_3$.

Příklad 16

Enantiomery diethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikoly)aminomethylfosfonátu]



a) 3,5-Di-terc.butyl-4-hydroxybenzaledhyd (30 g, 123,5 mmol) a (R)-(+)-1-fenylethylamin (15,7 g, 129,7 mmol) byly míchány ve 100 ml tetrahydrofuranu při teplotě místnosti jeden den. Roztok byl vysušen síranem hořečnatým a odpařen. Odpovídající imin byl rekrystalizován z ligroinu (38 g; 88% výtěžek; teplota tání = 127 až 128 °C).

Imin (30 g, 89 mmol) a diethylfosfit (15,4 g, 111,3 mmol) byly refluxovány v 80 ml toluenu po dobu 5 hodin. Směs byla odpařena do sucha. Zkouška odparku vysokoučinnou kapalinovou chromatografií ukázala, že jeden z diastereoisomeru je tvořen převážně (84 % proti 3 % reakční směsi). Hlavní diastereoisomer diethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(1-fenylethyl)aminomethyl-fosfonát] byl izolován následnou krystalizací (10 g); $[\alpha]_D^{25}$

+ 8,33° (c = 1,649, CHCl₃); teplota tání = 105 až 106 °C.

(+)-Diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(1-fenylethyl)aminomethylfosfonát] (9,5 g, 20 mmol) byl hydrogenován v ethanolu v přítomnosti 2,5 g 10% palladia na aktivním uhlí, čímž byl získán (-)-diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)aminomethylfosfonát] (5,6 g, 76% výtěžek; teplota tání = 143 až 145 °C (rekrytalizováno ze soustavy ligroin/CH₂Cl₂; [α]_D²⁰ -12,12° (c = 1,650, CHCl₃)).

(-)-Diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-aminomethylfosfonát] (11 g, 29,6 mmol) a pyridin-4-karboxaldehyd (6,3 g, 59,3 mmol) byly rozpuštěny v 125 ml methanolu. Směs byla okyselena koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou (indikátor bromfenolová modř). Po půl hodině míchání při teplotě místnosti byl přidán NaBH₃CN (5,6 g, 89 mmol) rozpuštěný v 30 ml methanolu a pH bylo upraveno opět pomocí kyseliny chlorovodíkové. Reakční směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 4 hodin, poté odpařena do sucha a extrahována dichlormethanem a vodou. Organická fáze byla vysušena síranem hořečnatým a odpařena. Odparek byl oddělen kolonovou chromatografií (silikagel, 95/5 CHCl₃/MeOH), čímž byl získán (-)-diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)aminomethylfosfonát] (11 g; 80% výtěžek; teplota tání = 66 až 69 °C; [α]_D²⁰ -44,05° (c = 1,992, CHCl₃)).

b) 3,5-Di-terc.butyl-4-hydroxybenzaldehyd (30 g, 123,5 mmol) a (S)-(-)-1-fenylethylamin (15,7 g, 129,7 mmol) byly míchány ve 100 ml tetrahydrofuranu jeden den, čímž byl získán odpovídající imin (36,5 g; 88% výtěžek; teplota tání = 127 až 128 °C). Imin (20 g, 59,3 mmol) a diethylfosfit (10,2 g, 74,2 mmol) byly refluxovány v 60 ml toluenu po dobu 7 hodin. Směs byla odpařena do sucha. Zkouška odparku

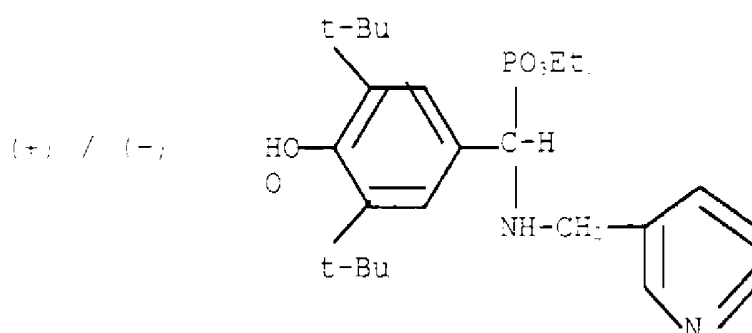
vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií ukázala, že poměr diastereoisomerů je 60 ku 40 a navíc oproti výchozím látkám. Posledně jmenovaná sloučenina byla stripována kolonovou chromatografií na silikagelu (98/2 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Frakce obsahující směs diastereoisomerů byly odpařeny do sucha a rekrystalizovány třikrát z ligroinu/MTBE, čímž byl získán hlavní diastereoisomer, diethyl- $[\alpha-(3,5\text{-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl})\text{-N-(1-fenylethyl)aminomethylfosfonát}]$ [(12 g; teplota tání = 104 až 105 °C; $[\alpha]_D^{25} = 10,53^\circ$ ($c = 1,643$, CHCl_3)].

(-)-Diethyl- $[\alpha-(3,5\text{-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl})\text{-N-(1-fenylethyl)aminomethylfosfonát}]$ (42 g, 88,4 mmol) byl hydrogenován v ethanolu v přítomnosti 6 g 10% palladia na aktivním uhlí, čímž byl získán (+)-diethyl- $[\alpha-(3,5\text{-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl})\text{-aminomethylfosfonát}]$ (24,5 g; 75% výtěžek; teplota tání = 143 až 144 °C (rekrystalizovaný z ligroinu/MTBE); $[\alpha]_D^{25} = +11,04^\circ$ ($c = 1,714$, CHCl_3)).

(+)-Diethyl- $[\alpha-(3,5\text{-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl})\text{-aminomethylfosfonát}]$ (11 g, 29,6 mmol) a pyridin-4-karboxaldehyd (6,35 g, 59,3 mmol) ve 125 ml methanolu byly podrobeny reakci s NaBH_4CN (5,6 g, 89 mmol) stejným způsobem, jaký byl popsán u (-)-enantiomeru. Kolonová chromatografie na silikagelu (95/5 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) dala (+)-diethyl- $[\alpha-(3,5\text{-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl})\text{-N-(4-pikolyl)aminomethylfosfonát}]$ (12 g, 87% výtěžek; teplota tání = 67 až 70 °C; $[\alpha]_D^{25} = +43,03^\circ$ ($c = 1,984$, CHCl_3)).

Příklad 17

Enantiomery diethyl- $[\alpha-(3,5\text{-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl})\text{-N-(3-pikolyl)aminomethylfosfonátu}]$



a) Stejným způsobem jako v příkladu 16 byly podrobeny reakci (-)-diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-aminomethylfosfonát] (1 g, 2,7 mmol) a pyridin-3-karboxaldehyd (0,43 g, 4 mmol) s NaBH₄CN (0,34 g, 5,4 mmol) v MeOH po dobu 5 hodin při teplotě místnosti, čímž byl získán po trituraci v petroletheru (+)-diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)aminomethylfosfonát] (1 g, 80% výtěžek; teplota tání = 116 až 119 °C; [α]_D²⁵ +42,88° (c = 1,614, CHCl₃)).

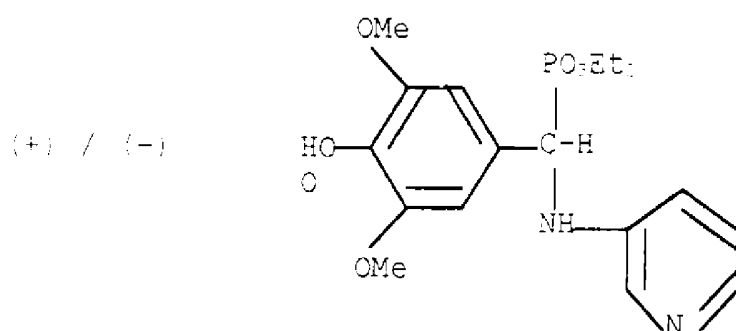
b) respektive

(-)-diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-aminomethylfosfonát] (1 g, 2,7 mmol a pyridin-3-karboxaldehyd (0,43 g, 4 mmol) byly podrobeny reakci s NaBH₄CN (0,34 g, 5,4 mmol) v methanolu, čímž byl získán (-)-diethyl-[α-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)aminomethylfosfonát] (0,7 g, 56%; teplota tání = 116 až 120 °C).

Příklad 18

Enantiomery diethyl-[α-(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu]

15.07.98



Enantiomery racemické směsi byly odděleny preparativní vysokoúčinné kapalinové chromatografie na Chiracel OD a isokratickou elucí hexanem a ethanolem (9 : 1), UV detekce při 254 nm. Bylo dosaženo úplné základní linie a obsah obou píků byl odpařen na bílou pevnou látku, ve které nebyl detekován žádný jiný isomer analytickou vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií.

První pík: doba retence 18 min, $[\alpha]_D^{20} -7,4^\circ$ ($c = 0,244$ g/hmotn./obj., EtOH).

Druhý pík: doba retence 34 min, $[\alpha]_D^{20} +8,3^\circ$ ($c = 0,255$ g/hmotn./obj., EtOH).

Struktury obou enantiomerů byly potvrzeny NMR a MS spektroskopii a elementární analýzou.

Elementární analýza pro $C_{15}H_{13}N_2O_6P$:

vypočteno (*): C 54,54 H 6,36 N 7,07

(+)enantiomer:

teplota tání: 153 až 157 °C

nalezeno(+): C 53,85 H 6,22 N 6,81

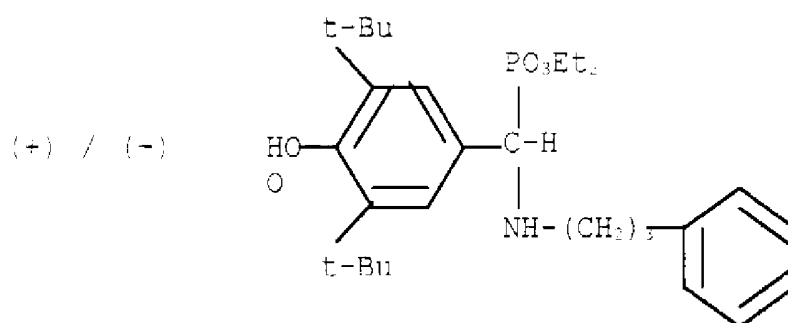
(-)enantiomer:

teplota tání: 155 až 158 °C

nalezeno (-): C 54,25 H 6,24 N 6,94

Příklad 19

Enantiomery diethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-fenylpropyl)aminomethylfosfonátu]



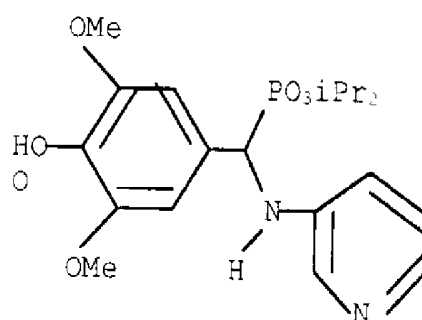
a) (-)-Diethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-aminomethylfosfonát] (1,7 g, 4,5 mmol) a 3-fenylpropion-aldehyd (0,6 g, 4,5 mmol) ve 20 ml absolutního methanolu byly míchány pod dusíkem při teplotě místnosti po dobu 30 minut. NaBH_3CN (0,3 g, 4,5 mmol) rozpuštěný v 10 ml methanolu byl přidán a směs byla ponechána reagovat při teplotě místnosti další hodinu. Reakční směs byla odpařena do sucha a odparek byl zředěn dichlormethanem. Organická fáze byla promyta vodou, poté vysušena síranem hořečnatým. Kolonová chromatografie s 98/2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ jako eluentem poskytla (-)-diethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-fenylpropyl)aminomethylfosfonát] [1,2 g; 56% výtěžek; $[\alpha]_D^{25} +33,1^\circ$ ($c = 2,055$, CHCl_3)].

b) (+)-Diethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-aminomethylfosfonát] (1,2 g, 3,2 mmol) a 3-fenylpropion-aldehyd (0,4 g, 3,2 mmol) ve 20 ml absolutního methanolu byly podrobeny reakci stejným způsobem s NaBH_3CN (0,2 g, 3,2 mmol) v 10 ml methanolu, čímž byl po kolonové chromatografii získán (+)-diethyl- $[\alpha$ -(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-fenylpropyl)aminomethylfosfonát] [0,94 g; 61% výtěžek; $[\alpha]_D^{25} +31,1^\circ$ ($c = 1,930$, CHCl_3)].

c) Struktury obou enantiomerů byly potvrzeny pomocí IČ, NMR a MS. Enantiomery byly odděleny analytickou vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií na Chiralpak AD a isokratickou elucí hexanem/2-propanolem (9:1/obj.:obj.).

Příklad 20

Diisopropyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát]



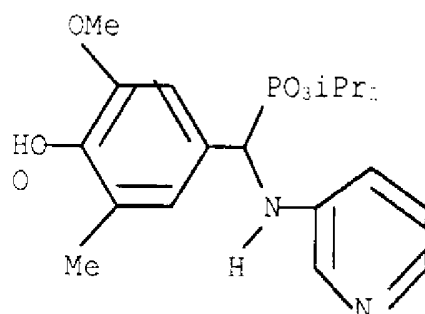
K 2,58 g (10 mmol) 3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyd-N-(3-pyridyl)iminu rozpuštěnému v 15 ml toluenu byl přidán diisopropylfosfit (3,3 g, 20 mmol) a směs byla refluxována pod dobu 17 hodin. Rozpouštědlo a přebytek diisopropylfosfitu byly odpařeny a odparek byl přečištěn kolonovou chromatografií (9/1 CH₂Cl₂/MeOH) a rekrystalizací ze směsi EtOH/AcOEt, čímž bylo získáno 1,56 g (37 %) bílé pevné látky, teplota tání = 157 až 160 °C.

MS (m/e) = 425: M⁺, 259 (100%): M⁺ - PO₃iPr₂.

NMR (CDCl₃): δ = 8,08, 7,96, 7,03 a 6,84 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,69 (d, J = 2 Hz, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (široký, 1H): OH, 4,82 (d x d, 1H, J = 7 a 10 Hz): N-H, 4,55 (d x d, 1H, J = 7 a 23 Hz): CH-PO₃iPr₂, 4,75 - 4,65 a 4,55 - 4,45 (2m, 2H celkově): P-O-CH₂-(CH₃)₂, 3,86 (s, 6H): OCH₃, 1,34, 1,28, 1,24 a 0,9: (4d, J = 7 Hz): P-O-CH₂-(CH₃)₂.

Příklad 21

Diisopropyl- α -(4-hydroxy-3-methoxy-5-methylfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát]



Směs 1,9 g (11 mmol) 4-hydroxy-3-methoxy-5-methylbenzaledhydu (teplota tání 98 až 100 °C) a 1,08 g (11 mmol) 3-aminopyridinu, rozpuštěná v 15 ml toluenu, a katalytického množství kyseliny p-toluensulfonové (asi 5 mg) obsažená v baňce spojené s Dean-Starkovým nástavcem byla refluxována po dobu 15 hodin. Roztok byl odpařen do sucha, čímž bylo získáno 2,7 g (100 %) surového iminu.

K 2,77 g (11 mmol) výše uvedeného iminu rozpuštěného v 20 ml tetrahydrofuranu byl přidán diisopropylfosfit (5,48 g, 33 mmol) a směs byla refluxována po dobu 24 hodin. Rozpouštědlo a přebytek diisopropylfosfitu byly odpařeny a odparek byl přečištěn kolonovou chromatografií (95/5 CH₂Cl₂/MeOH) a rekrystalizací ze směsi petrolether/CH₂Cl₂, čímž bylo získáno 1,9 g (43 %) bílé pevné látky, teplota tání = 123 až 124 °C.

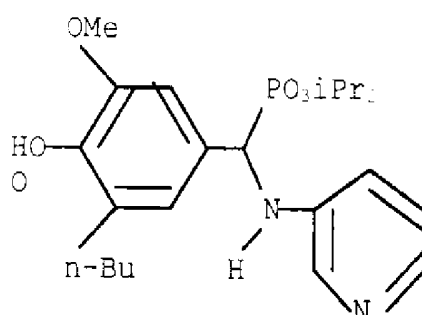
MS (m/e) = 408: M⁺, 243 (100 %): M⁺ - PO₂iPr₂.

NMR (CDCl₃): δ = 8,07, 7,95, 7,02 a 6,84 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,83 - 6,81 (m, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (s, 1H): OH, 4,78 (d x d, 1H, J = 7,5 a 10 Hz): N-H, 4,30 (d x d, 1H, J = 7,5 a 23 Hz): CH-

PO_3iPr_2 , 4,73 - 4,65 a 4,48 - 4,40 (2m, 2H celkové): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$, 3,85 (s, 3H): OCH_3 , 2,22 (s, 3H): CH_3 , 1,33, 1,26, 1,24 a 0,96: (4d, $J = 7 \text{ Hz}$): $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_3)_2$.

Příklad 22

Diisopropyl- $[\alpha-(3\text{-n-butyl-4-hydroxy-5-methoxyfenyl})\text{-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonát}]$



Směs 6,1 g (30 mmol) 3-n-butyl-4-hydroxy-5-methoxybenzaldehydu a 2,76 g (30 mmol) 3-aminopyridinu, rozpuštěného v 50 ml toluenu, a katalytického množství kyseliny p-toluensulfonové (asi 5 mg) obsažená v baňce spojené s Dean-Starkovým nástavcem byla refluxována po dobu 16 hodin. Roztok byl odpařen do sucha, čímž bylo získáno 7,8 g (94 %) surového iminu.

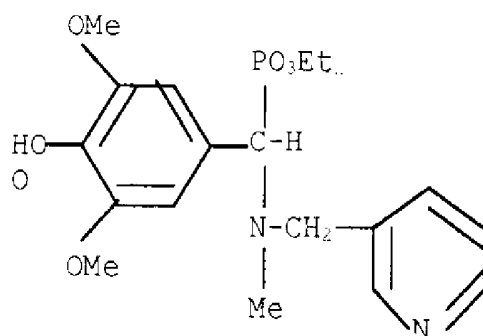
K 2,4 g (8 mmol) výše uvedeného iminu rozpuštěného v 30 ml tetrahydrofuranu byl přidán diisopropylfosfit (4,20 g, 25 mmol) a směs byla refluxována po dobu 24 hodin. Rozpouštědlo a přebytek diisopropylfosfitu byly odpařeny a zbytek byl přečištěn kolonovou chromatografií (95/5 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) a rekrytalizací ze směsi petrolether/ CH_2Cl_2 , čímž bylo získáno 1,9 g (43 %) bílé pevné látky, teplota tání = 142 až 144 °C.

MS (m/e) = 450: M^+ , 285 (100 %): $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{iPr}_2$.

NMR (CDCl_3): δ = 8,07, 7,95, 7,0 a 6,84 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pyridyl, 6,83 - 6,80 (m, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,8 (s, 1H): OH , 4,74 (d x d, 1H, J = 7,5 a 10 Hz): N-H, 4,54 (d x d, 1H, J = 7,5 a 23 Hz): $\text{CH-PO}_3\text{iPr}_2$, 4,75 - 4,65 a 4,50 - 4,40 (2m, 2H celkově): P-O- $\text{CH-}(\text{CH}_3)_2$, 3,85 (s, 3H): OCH_3 , 2,60 (t, 2H): CH_3 , 1,50 (m, 2H), 1,31 (m, 2H) a 0,90 (t, 3H): n-Bu, 1,33, 1,26 a 0,94: (4d, J = 7 Hz): P-O- $\text{CH}_2-(\text{CH}_3)_2$.

Příklad 23

Diethyl- $[\alpha-(3,5\text{-dimethoxy-4-hydroxyfenyl})\text{-N-methyl-N-(3-pikolyl)aminomethylfosfonát}]$



Směs 3,0 g (16,5 mmol) syringaldehydu, 2,03 g (16,6 mmol) N-methyl-3-pikolylaminu a 2,3 g (16,6 mmol) diethylfosfitu, rozpuštěná v 15 ml toluenu, a katalytické množství kyseliny p-toluensulfonové (asi 5 mg) obsažené v baňce spojené s Dean-Starkovým nástavcem byla refluxována po dobu 2 hodin. Roztok byl odpařen a odparek byl přečištěn kolonovou chromatografií (95/5 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$), čímž bylo získáno 3,2 g (46 %) žlutého oleje.

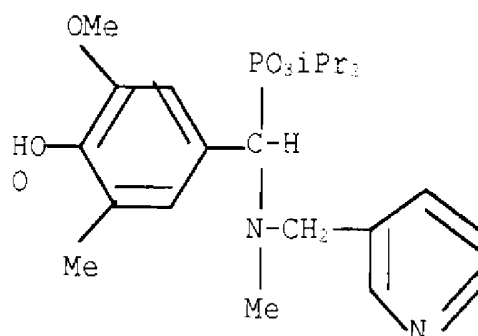
MS (m/e) = 287: $\text{M}^+ - \text{PO}_3\text{Et}_2$.

NMR (CDCl_3): δ = 8,55, 8,51, 7,72 a 7,27 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pikolyl, 6,73 (d, 2H): aromatický H,

substituovaný fenyl, 5,8 (široký, 1H): OH, 4,25, 3,94 a 3,7 (3m, 4H): P-O-CH₂-CH₃, 3,89 (d, J = 23 Hz, 1H): CH-PO₃Et₂, 3,9 a 3,4 (2d, 2H): N(CH₃)-CH₂-Py, 3,91 (s, 6H): OCH₃, 2,41 (s, 3H): N(CH₃)-CH₂-PyCH₃, 1,39 a 1,08 (2t, J = 7 Hz, 6H): P-O-CH₂-CH₃.

Příklad 24

Diisopropyl-[α-(4-hydroxy-3-methoxy-5-methylfenyl)-N-methyl-N-(3-pikolyl)aminomethylfosfonát]



Směs 2,0 g (12 mmol) 4-hydroxy-3-methoxy-5-methylbenzaldehydu, 1,8 g (13,2 mmol) N-methyl-3-pikolylaminu a 2,2 g (13,2 mmol) diisopropylfosfitu, rozpuštěná v 15 ml toluenu, a katalytické množství kyseliny p-toluensulfonové (asi 2 mg) obsažené v baňce spojené s Dean-Starkovým nástavcem byla refluxována po dobu 2 hodin. Roztok byl odpařen a odparek byl přečištěn kolonovou chromatografií (95/5 CHCl₃/MeOH), čímž bylo získáno 2,1 g (40 %) žlutého oleje.

MS (m/e) = 271: M⁺ - PO₃iPr₂.

NMR (CDCl₃): δ = 8,54, 8,50, 7,72 a 7,24 (4m, 1H každý): aromatický H, 3-pikolyl 6,97 a 6,77 (2m, 2H): aromatický H, substituovaný fenyl, 5,75 (široký, 1H): OH, 4,86 - 4,78, a 4,51 - 4,42 (2m, 2H celkově): P-O-CH(CH₃)₂, 3,84 (d, J = 24

Hz, 1H): $\text{CH-PO}_3\text{iPr}_2$, 3,97 a 3,34 (2d, $J = 13,5$ Hz, 2H):
 $\text{N(CH}_3\text{)-CH}_2\text{-Py}$, 3,91 (s, 3H): OCH_3 , 2,36 (s, 3H): CH_3 ,
 2,26 (s, 3H): $\text{N(CH}_3\text{)-CH}_2\text{-Py}$, 1,39, 1,37, 1,21 a 0,83 (4d, J
 $= 7$ Hz, 12H): $\text{P-O-CH}_2\text{-(CH}_3\text{)}_2$.

Analogickým způsobem jako v příkladech 1 až 24 mohou
 být také získány dále uvedené sloučeniny:

Diethyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxy-5-n-propylfenyl)-N-(3-
 pyridyl)aminomethylfosfonát];

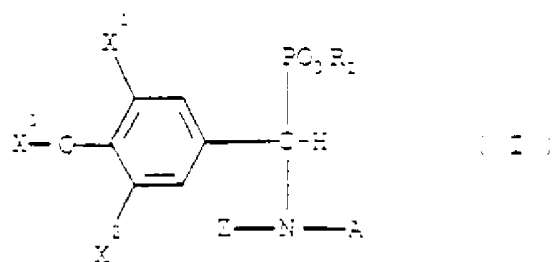
Diisopropyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxy-5-n-propylfenyl)-N-(3-
 pyridyl)aminomethylfosfonát];

Diethyl-[α -(3-isobutyl-4-hydroxy-5-methoxyfenyl)-N-(3-
 pyridyl)-aminomethylfosfonát] a

Diisopropyl-[α -(3-isobutyl-4-hydroxy-5-methoxyfenyl)-N-(3-
 pyridyl)aminomethylfosfonát].

Tabulka 1 ukazuje fyzikálně chemické vlastnosti
 sloučenin obecného vzorce I, které byly připraveny způsoby
 uvedenými v příkladech 1 až 24 a obsažených v tomto
 patentu. Tyto způsoby jsou popsány v EP 0 559 079 A
 (odpovídající US patentu č. 5 424 303).

Tabuľka 1- Aminofosfonáty obecného vzorca I



sl.	X ¹	X ²	X ³	Z	A	R	hmotnosť	molekulová hmotnosť
1	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	Me	168-170	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₄ P
2	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	Et	155-156	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
3	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	iPr	135-137	C ₂₆ H ₄₁ N ₂ O ₄ P
4	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	nPr	133-135	C ₂₆ H ₄₁ N ₂ O ₄ P
5	tBu	tBu	H	H	3-pyridyl	nBu	112-114	C ₂₈ H ₄₅ N ₂ O ₄ P
6	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	Me	120-122	C ₂₃ H ₃₅ N ₂ O ₄ P
7	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	Et	87-91	C ₂₅ H ₃₉ N ₂ O ₄ P
8	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	iPr	126-128	C ₂₇ H ₄₃ N ₂ O ₄ P
9	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	nPr	108-110	C ₂₇ H ₄₃ N ₂ O ₄ P
10	tBu	tBu	H	H	4-pikolyl	nBu	60-61	C ₂₉ H ₄₇ N ₂ O ₄ P
11	tBu	tBu	H	COMe	4-pikolyl	Et	160-162	C ₂₇ H ₄₁ N ₂ O ₅ P
12	tBu	tBu	H	H	5-(2-chlor pyridyl)	Et	124-126	C ₂₄ H ₃₆ ClN ₂ O ₄ P
13	tBu	tBu	H	H	2-pyridyl	Et	116-118	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
14	tBu	tBu	H	H	4-pyridyl	Et	116-119	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
15	tBu	tBu	H	H	3-pikolyl	Et	100-101	C ₂₅ H ₃₉ N ₂ O ₄ P
16	tBu	tBu	H	H	2-pikolyl	Et	90-91	C ₂₅ H ₃₉ N ₂ O ₄ P
17	tBu	tBu	H	H	2-(2-pyridyl)ethyl	Et	76-78	C ₂₆ H ₄₁ N ₂ O ₄ P

Tabulka 1 - pokračování

Sl.	X ¹	X ²	X ³	Z	A	R	h _{max} , nm	molekulární vzorec
18	H	H	H	H	3-pyridyl	Et	210-212	C ₁₆ H ₂₁ N ₂ O ₄ P
19	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Me	186-187	C ₁₆ H ₂₁ N ₂ O ₆ P
20	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Et	181-183	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
21	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	iPr	157-160	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₆ P
22	OMe	OMe	H	H	2-pikolyl	Et	114-115	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
23	OMe	OMe	H	H	3-pikolyl	Et	99-101	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
24	OMe	OMe	H	H	4-pikolyl	Et	125-127	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
25	OMe	H	H	H	3-pyridyl	Et	171-173	C ₁₇ H ₂₃ N ₂ O ₅ P
26	OEt	H	H	H	3-pyridyl	Et	185-187	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₅ P
27	OMe	OMe	Me	H	3-pyridyl	Et	134-136	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
28	Me	Me	H	H	3-pyridyl	Et	176-178	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₄ P
29	OMe	OMe	H	H	2-pyridyl	Et	163-165	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
30	OMe	OMe	H	H	4-pyridyl	Et	172-174	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
31	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	nPr	142-143	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₆ P
32	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	nBu	158-160	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₆ P
33	OMe	NO ₂	H	H	3-pyridyl	Et	212-213	C ₁₇ H ₂₂ N ₃ O ₇ P
34	OMe	OMe	H	H	5-(2-chlor pyridyl)	Et	193-195	C ₁₈ H ₂₄ ClN ₂ O ₆ P
35	OMe	OMe	H	H	5-(2-methoxypyridyl)	Et	135-137	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₇ P
36	OMe	OMe	H	H	3-(2-methylpyridyl)	iPr	148-150	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₆ P
37	OMe	OMe	H	H	5-(2-methylpyridyl)	Et	189-190	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
38	OMe	OMe	H	H	5-(2-methylpyridyl)	iPr	150-152	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₆ P
39	Me	t-Bu	H	H	3-pyridyl	Et	90-91	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₄ P
40	iPr	iPr	H	H	3-pyridyl	Et	174-176	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₄ P
41	sBu	sBu	H	H	3-pyridyl	Et	140-141	C ₂₄ H ₃₇ N ₂ O ₄ P
42	Et	Et	H	H	3-pyridyl	Et	170-171	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₄ P
43	OMe	Me	H	H	3-pyridyl	Et	164-166	C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₅ P
44	OMe	Me	H	H	3-pyridyl	iPr	123-125	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₅ P
45	OMe	nBu	H	H	3-pyridyl	Et	133-134	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
46	OMe	nBu	H	H	3-pyridyl	iPr	142-144	C ₂₃ H ₃₅ N ₂ O ₅ P
47	OMe	Me	H	H	3-pikolyl	Et	99-101	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
48	OMe	Me	H	H	3-pikolyl	iPr	85-86	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
49	OMe	Me	H	H	4-pikolyl	Et	129-130	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
50	OMe	Me	H	H	4-pikolyl	iPr	138-141	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P

Tabulka 1- pokračování

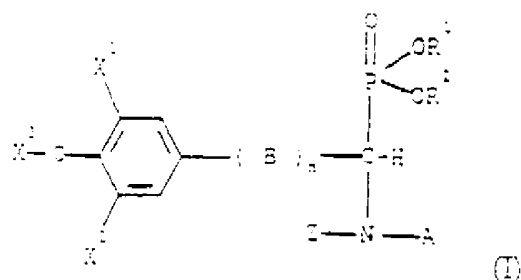
Sl.	X ¹	X ²	X ³	Z	A	R	h ₁ - h ₂	Průběh reakce
51	Me	Me	H	H	3-pyridyl	iPr	169-171	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₄ P
52	OEt	H	H	H	3-pyridyl	iPr	192-194	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₅ P
53	OEt	Me	H	H	3-pyridyl	Et	172-173	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
54	OEt	Me	H	H	3-pyridyl	iPr	177-178	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
55	OEt	OEt	H	H	3-pyridyl	Et	130-132	C ₂₀ H ₂₉ N ₂ O ₆ P
56	OEt	OEt	H	H	3-pyridyl	iPr	149-150	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₆ P
57	OMe	Et	H	H	3-pyridyl	Et	139-141	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
58	OMe	Et	H	H	3-pyridyl	iPr	146-148	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
59	OMe	OEt	H	H	3-pyridyl	Et	156-157	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P
60	OMe	OEt	H	H	3-pyridyl	iPr	159-160	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₆ P
61	OMe	OMe	H	Me	3-pikolyl	Et	141-143	*NMR a MS
62	OMe	OMe	H	Me	3-pikolyl	iPr	143-145	*NMR a MS
63	OMe	Me	H	Me	3-pikolyl	Et	144-146	*NMR a MS
64	OMe	Me	H	Me	3-pikolyl	iPr	146-148	*NMR a MS
65	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Et	153-157	**C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
66	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Et	155-158	***C ₁₈ H ₂₅ N ₂ O ₆ P
67	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	Et	143-146	C ₁₉ H ₂₆ NO ₆ P
68	OMe	OMe	H	H	3-pyridyl	iPr	144-146	C ₂₁ H ₃₀ NO ₆ P
69	OMe	Me	H	H	5-(2-methylpyridyl)	Et	154-155	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
70	OMe	Me	H	H	5-(2-methylpyridyl)	iPr	149-150	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
71	OMe	Me	H	H	3-(2-methylpyridyl)	Et	150-152	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₅ P
72	OMe	Me	H	H	3-(2-methylpyridyl)	iPr	148-150	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ O ₅ P
73	OMe	OMe	H	H	3-(2-methylpyridyl)	Et	146-148	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ P

* 13C NMR a MS spektrální

** 13C NMR a MS spektrální

*** 13C NMR a MS spektrální

Tabulka 1 - Aminofosfonáty obecného vzorce I (pokračování)



sl.	X¹	X²	X³	(B) _n	Z	R	t.t., %	mikroanalýza
	H	O	CH ₂	metka	H	Et	98-99	C ₁₇ H ₂₁ N ₂ O ₅
	OMe	OMe	H	CH=CH	H	Et	pěna	*NMR a MS
	OMe	OMe	H	CH ₂ -CH ₂	H	Et	134-138	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₄ P

* : Zjištěno NMR a MS spektroskopii

Biologické údaje

Hodnoty in vitro

Sloučeniny obecného vzorce I byly testovány na snížení produkce Lp(a) v primárních kulturách hepatocytu opic *Cynomolgus* podle dále popsanych zkoušek. Jako dvě inkubační doby byly použity: 4 hodiny pro zkoušku 1 a 24 hodin pro zkoušku 2.

Pracovní postup

Hepatocyty byly izolovány z jater dospělých opic *Cynomolgus* metodou dvoukrokové kolagenázové perfuze jak popsal C. Guguen-Guillouzo a A. Guillouzo „Methods for preparation of adult and fetal hepatocytes“, str. 1 až 12 v „Isolated and Cultured Hepatocytes“, vydáno Inserm Paris and John Libbey Eurotext London (1986).

Životaschopnost buněk byla zkoušena barvením trypanovou modří. Buňky byly poté zaočkovány na hustotu 1,5

- 2.10⁶ životaschopných buněk na 2 cm² do tkáňových kultivačních desek se 24 jamkami v objemu 500 µl kultivačního tkáňového média Williams E obsahujícího 10 % fetálního telecího séra na jamku. Buňky byly inkubovány po 4 až 6 hodin při 37 °C v inkubátoru obsahujícím oxid uhličitý (5 % CO₂) v přítomnosti 20 µM testovaných sloučenin rozpuštěných v ethanolu. Pro každou sloučeninu byly použity 4 jamky. Jako srovnávací látky byly použity kyselina nikotinová a steroidní hormony, aby se vyhodnotil zkušební systém, neboť je známo, že snižují Lp(a) u člověka. Kontrolní buňky byly inkubovány pouze v přítomnosti ethanolu.

Množství Lp(a) vylučovaného v kultivačním mediu bylo přímo zkoušeno testem ELISA za použití komerčně dostupného kitu. Buňky byly promyty a lyzovány, jak popsal v A. L. White a kol., Journal of Lipid Research, sv. 34, str. 509 až 517 (1993) a buněčný obsah Lp(a) byl zkoušen, jak je popsáno výše.

Změny v koncentraci Lp(a) v kultivačním mediu jsou udány jako procenta hodnoty naměřené u kontrolních desek po 4 hodinách (zkouška 1) nebo 24 hodinách (zkouška 2).

Výsledky

- zkouška 1: u sloučeniny 2, 7, 11, 15, 16, 18 a 20 bylo zjištěno, že mění koncentrace Lp(a) v kultivačním mediu v rozmezí od -12 do -34 %.
- zkouška 2: u sloučeniny 1, 2, 3, 5, 7, 11, 13, 15, 17, 19, 20, 21, 26 až 29, 32, 34 až 52, 57 až 60, 65 a 66 bylo zjištěno, že mění koncentrace Lp(a) v kultivačním mediu v rozmezí od -7 do -37 %.

Hodnoty in vivo - pracovní postup

Samci opic *Cynomolgus* o hmotnosti mezi 3 a 7 kg byly rozděleny do skupin po 3 až 4 zvířatech v každé z nich. Před ošetřením byly hladiny jejich plazmatických Lp(a) sledovány po dobu dvou měsíců pro zjištění základní hodnoty. Testované sloučeniny byly podávány orálně sondou v dávkách 25 mg/kg za den po dobu 4 týdnů a Lp(a) bylo měřeno ve dni 28. Na konci doby podávání byla zvířata ponechána bez ošetření po dobu 4 týdnů, přičemž se jejich hladiny plazmatických Lp(a) vrátily na hodnotu před ošetřením. Tato kontrola dokázala, že snížení naměřených hodnot Lp(a) bylo způsobeno farmakologickou aktivitou testovaných sloučenin.

Výsledky

Ve dni 7 a 28 po noci bez podávání potravy byly odebrány krevní vzorky na EDTA a byly měřeny Lp(a) pomocí vysoce citlivého a specifického ELISA testu. Výsledky (průměr 3 až 4 hodnot z každé skupiny) byly vyjádřeny jako % hodnoty před podáním dávek (den -7). Vybrané sloučeniny obecného vzorce I byly testovány za experimentálních podmínek pro zjištění jejich farmakologické aktivity in vivo.

Sloučeniny číslo 1, 2, 3, 7, 15, 17, 19, 20, 21, 27, 28, 32, 39, 44 a 52 snižují hladiny Lp(a) v rozmezí od -13 do -51 % (hodnoty měřené ve dni 28, % změny vzhledem ke stavu před podáváním dávek, ve dni -7).

Sloučeniny obecného vzorce I mají proto terapeutický potenciál pro léčení dále uvedených chorob, kde Lp(a) je spojeno s urychlenou atherosklerózou, abnormální prolife-

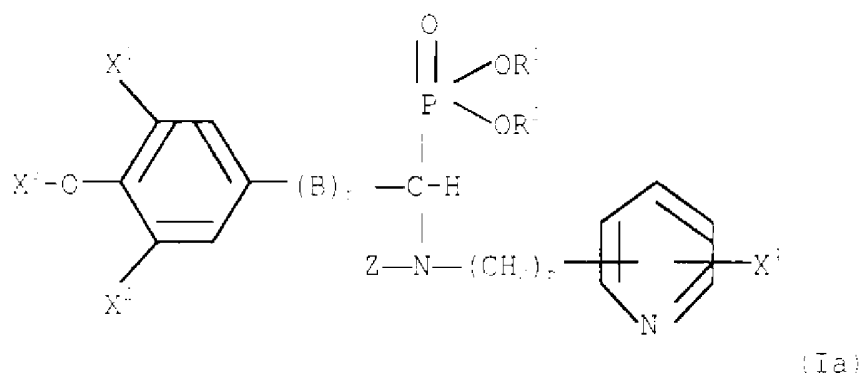
10.07.98

rací buněk hladkého svalstva a zvýšenou trombogenózou:
koronární nemoci srdce, choroby periferních arterií:
střídavé kulhání, extrakraniální karotická atheroskleróza,
mrtvice, restenóza po angioplastice a atheroskleróza
vyskytující se po transplantaci srdce. První indikací
těchto sloučenin by mělo být léčení výše uvedených chorob.

PATENTOVÉ NÁROKY

(ÚPRAVA PRO VSTUP DO NÁRODNÍ FÁZE)

1. Sloučenina obecného vzorce Ia



ve kterém

X^1 je vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, hydroxyskupina nebo alkokyskupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku;

X^2 je alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkokyskupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku;

X^3 je vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku;

R^1, R^2 , které mohou být stejné nebo odlišné, jsou vodík nebo alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku;

B je skupina vzorce CH_2-CH_2 , $CH=CH$ nebo CH_3 ;

n je nula nebo 1;

Z je vodík nebo alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku;

m je 0 nebo 1;

X^1 je vodík, alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, alkoxy skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku nebo halogen;

a pyridylový kruh je napojen α - nebo β -atomem uhlíku kruhu na dusík (2- nebo 3-pyridyl);

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Sloučenina podle nároku 1, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia X^1 je vodík, methylová skupina nebo methoxy-skupina.

3. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia X^1 methylová skupina nebo methoxy-skupina.

4. Sloučenina podle nároku 1, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia X^1 a X^2 jsou oba alkoxy skupiny obsahující 1 až 4 atomy uhlíku nebo jeden z X^1 nebo X^2 je alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku a druhý je alkylová skupina obsahující 1 až 4 atomy uhlíku.

5. Sloučenina podle nároku 1, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia X^1 a X^2 je methoxy skupina a methoxy skupina, methoxy skupina a methylová, n-propylová nebo iso-propylová skupina nebo methylová skupina a methylová nebo terc.butylová skupina.

6. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároku 1 až 5, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia je X^1 vodík.

7. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároku 1 až 6, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia je (B) přímá vazba.

8. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia každý z R^1 , R^2 je přímá nebo rozvětvená alkylová skupina obsahující 1 až 3 atomy uhlíku.

9. Sloučenina podle nároku 8, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia každý z R^1 , R^2 je alkylová skupina obsahující 2 nebo 3 atomy uhlíku.

10. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 9, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia je Z vodík.

11. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 10, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia X^1 je vodík nebo methylová skupina, která je výhodně na uhlíku kruhu sousedícím s dusíkem.

12. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 11, kde ve sloučenině obecného vzorce Ia je pyridylový kruh připojen β -atomem uhlíku kruhu na dusík (3-pyridyl).

13. Sloučenina obecného vzorce Ia, jak je definována v nároku 1, vybraná z

diethyl- $[\alpha$ -(4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

diethyl- $[\alpha$ -(3,4-methylenedioxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-amínofosfonátu],

diethyl- $[\alpha$ -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonátu],

dimethyl- $[\alpha$ -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

diisopropyl- $[\alpha$ -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

diethyl- $[\alpha$ -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pyridyl)-aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pyridyl)-aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(2-pikolyl)-aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pikolyl)-aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(4-pikolyl)-aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(3-ethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(3,4,5-trimethoxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(3,5-dimethyl-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)-aminomethylfosfonátu],

(+)-diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

(-)-diethyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

diisopropyl-[α -(3,5-dimethoxy-4-hydroxyfenyl)-N-[5-(2-methylpyridyl)]aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxy-5-methylfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

diisopropyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxy-5-methylfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu],

diethyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxy-5-n-propylfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu] a

diisopropyl-[α -(4-hydroxy-3-methoxy-5-n-propylfenyl)-N-(3-pyridyl)aminomethylfosfonátu].

14. Farmaceutická kompozice **vyznačující se tím**, že obsahuje sloučeninu obecného vzorce Ia jak je definována v nároku 1 a farmaceuticky přijatelný nosič nebo excipient.

15. Sloučenina obecného vzorce Ia jak je definována v nároku 1 pro použití v terapii.

16. Použití sloučeniny obecného vzorce Ia jak je definována v nároku 1 k přípravě léčivého prostředku pro léčení choroby periferních arterií snížením hladin lipoprotein(a) v plazmě.

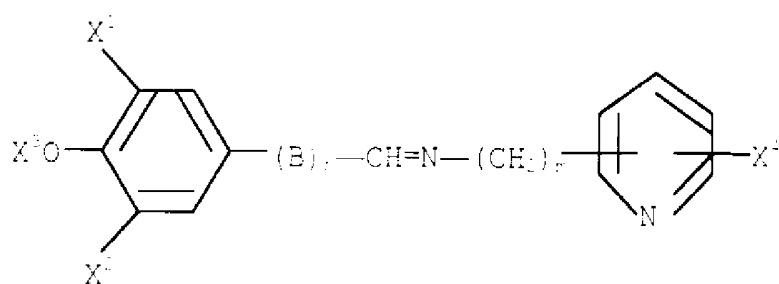
17. Použití sloučeniny obecného vzorce Ia jak je definována v nároku 1 k přípravě léčivého prostředku pro léčení trombózy snížením hladin lipoprotein(a) v plazmě.

18. Použití sloučeniny obecného vzorce Ia jak je definována v nároku 1 k přípravě léčivého prostředku pro léčení restenózy po angioplastice snížením hladin lipoprotein(a) v plazmě.

19. Použití sloučeniny obecného vzorce Ia jak je definována v nároku 1 k přípravě léčivého prostředku pro léčení aterosklerózy snížením hladiny lipoprotein(a) v plazmě.

20. Způsob výroby sloučeniny obecného vzorce Ia podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že zahrnuje:

a) když Z je vodík, reakci iminu obecného vzorce II



(II)

ve kterém

B, Xⁱ, X^j, X^k a n mají význam jak je definován v nároku 21;

s fosfitovou sloučeninou obecného vzorce III

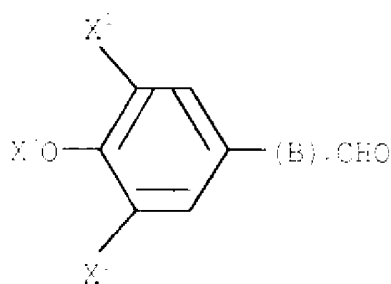


ve kterém

Rⁱ a R^j mají význam jako je definován v nároku 1,

nebo s jejím trialkylsilylovým derivátem nebo její kovovou soli; v přítomnosti nebo nepřítomnosti katalyzátoru, popřípadě v rozpouštědle;

b) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, ve kterém Z není vodík, reakci ekvimolárních množství aldehydu obecného vzorce V



(V)

ve kterém

B, Xⁱ, X^j, X^k a n mají význam jak je definován v nároku 1;

se sekundárním aminem obecného vzorce VII

HNZA

(VII)

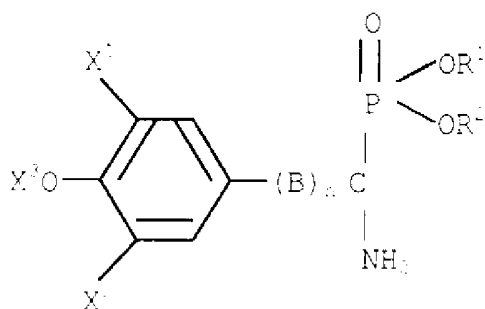
ve kterém

Z je alkylová skupina obsahující 1 až 8 atomů uhlíku a

A má význam jak je definován výše;

a fosfitem obecného vzorce III;

c) pro sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém m není nula,
reakci sloučeniny obecného vzorce VIII

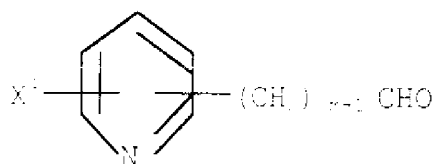


(VIII)

ve kterém

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n mají význam jak je definován
v nároku 1;

s aldehydem obecného vzorce IX



IX

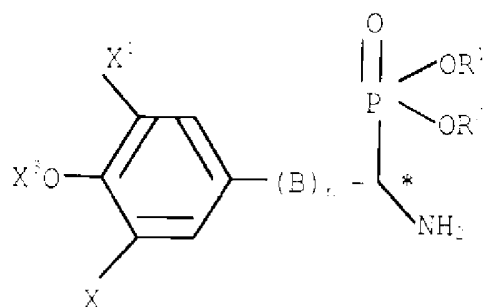
ve kterém

m je celé číslo od 1 do 6 a

X¹ má význam jak je definován výše;

za redukčních aminačních podmínek.

21. Způsob výroby jednotlivého enantiomeru amino-fosfonátu obecného vzorce Ia podle nároku 1, vyznačující se tím, že zahrnuje reakci buď (+)- nebo (-)-entaniomeru α -substituovaného aminomethylfosfonátu obecného vzorce X

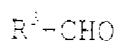


(X)

ve kterém

B, R¹, R², X¹, X², X³ a n mají význam jak je definován v nároku 1;

s aldehydem obecného vzorce XI



(XI)

ve kterém

R³ je alkylová skupina obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku nebo perfluoralkylová skupina obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku;

za redukčních aminačních podmínek.

22. Způsob podle nároku 21, vyznačující se tím, že reakce se provádí v přítomnosti natriumkyanborhydridu v alkoholickém rozpouštědle, výhodně methanolu, při hodnotě pH mezi 3 a 6 a při teplotě mezi 0 °C a 25 °C.