



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

236477

(11)

(B2)

(22) Přihlášeno 29 04 82
(21) (PV 3095-82)

(51) Int. Cl.³

~~A 61 K 1/16~~
C 07 C 91/16

A61K 31/16

(40) Zveřejněno 17 09 84

(45) Vydáno 16 03 87

(72) Autor vynálezu

KIERNAN JANE ANN, DUNELLEN NEW JERSEY, BAKER PAMELA KOENIG,
HOPEWELL, NEW JERSEY, (Sp. st. s.)

(73) Majitel patentu

AMERICAN CYANAMID COMPANY, STAMFORD (Sp. st. s.)

(54) Prostředek vhodný pro povzbuzení rychlosti růstu a pro snížení ukládání
tuku u teplokrevných zvířat

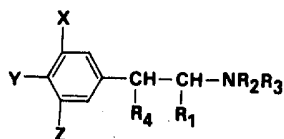
1

Vynález se týká derivátů fenyletanolaminu a jejich edičních solí s kyselinami, které jsou vhodné jako růstové promotory a prostředky pro redukci ukládání tuku u hospodářských a domácích zvířat.

V patentu USA č. 3 536 712, vydaném 27. října 1970, jsou zveřejněny substituční produkty určitých 1-(aminodihalogenfenyl)-2-aminoetanů a jejich edičních solí s kyselinami. Autoři tohoto patentu, zejména zveřejnili způsoby syntézy těchto sloučenin a uvedli, že jsou tyto sloučeniny užitečné pro povzbuzení krevního oběhu, jako bronchodilatační prostředky, analgetika, sedativa, antipyretika, antiflogistika a antitussiva pro teplokrevné živočichy. Příklady je však doložena pouze použitelnost jako analgetik. V uvedeném patentu není dokumentováno ani navrženo použití těchto látek pro snižování ukládání tuku nebo zvyšování rychlosti růstu u teplokrevných zvířat, zejména hospodářských a domácích zvířat, jako jsou vepři, drůbež, psi, ovce, kozy, kočky nebo hovězí dobytek.

Nyní se zjistilo, že rychlost růstu a potlačení ukládání tuku u zvířat chovaných na maso i jiných zvířat, jako jsou vepři, kuřata, krůty, domácí miláčkové, králíci, ovce, kozy a hovězí dobytek, včetně telet, se může zvýšit a účinnost využití potravy se tak může měřitelně zlepšit, když se těmto zvířatům orálně nebo parenterálně podá účinné množství sloučeniny, která je účinnou složkou prostředku podle vynálezu.

Předmětem vynálezu je prostředek vhodný pro povzbuzení rychlosti růstu a pro snížení ukládání tuku u teplokrevných zvířat obsahující účinnou složku a vhodné nosiče a/nebo ředidla této účinné složky. Prostředek podle vynálezu se vyznačuje tím, že jako účinnou složku obsahuje sloučeninu zvolenou ze souboru zahrnujícího sloučeniny obecného vzorce



kde

- X představuje vodík nebo halogen, jako například fluor, chlor, jod nebo brom, ale s výhodou chlor nebo brom,
- Y představuje vodík, skupinu NH_2 nebo skupinu obecného vzorce NHCOR_5 , kde R_5 má dále uvedený význam,
- Z představuje vodík, halogen, jako například fluor, chlor, jod nebo brom, ale s výhodou chlor nebo brom nebo hydroxyskupinu,
- R_1 představuje vodík nebo alkylskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,
- R_2 představuje vodík, alkylskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku s přímým nebo rozvětveným řetězcem nebo alkenylskupinu obsahující 3 až 4 atomy uhlíku,
- R_3 představuje vodík, alkylskupinu obsahující 1 až 6 atomů uhlíku s přímým nebo rozvětveným řetězcem, cykloalkylskupinu obsahující 3 až 6 atomů uhlíku, metoxypropylskupinu, alkenylskupinu obsahující 3 až 4 atomy uhlíku, fenyl-, 2-hydroxyetyl-, alfa, alfa-dimetylfenetyl- nebo benzylskupinu a kromě toho
- R_2 a R_3 dohromady, společně s atomem dusíku, ke kterému jsou vázány, mohou představovat morfolinoskupinu nebo N'-alkylpiperazinoskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku,
- R_4 představuje vodík, hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce OR_6 , kde R_6 má dále uvedený význam,
- R_5 představuje vodík nebo alkylskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku a
- R_6 představuje alkylskupinu obsahující 1 až 6 atomů uhlíku,

s tou podmínkou, že když R_3 představuje fenyl-, 2-hydroxyetyl-, alfa, alfa-dimetylfenetyl, cykloalkylskupinu se 3 až 6 atomy uhlíku nebo metoxypropylskupinu, R_2 představuje vodík; když Z představuje hydroxyskupinu, znamenají X a Y atomy vodíku; a když Y představuje skupinu obecného vzorce NHCOR_5 , kde R_5 má shora uvedený význam, znamená alespoň jeden ze symbolů X a Z atom vodíku a dále s tou podmínkou, že alespoň jeden ze substituentů X, Y a Z představuje jiný substituent než vodík,

racemické směsi těchto sloučenin, jejich opticky aktivní izomery a jejich netoxické farmakologicky vhodné soli s kyselinami.

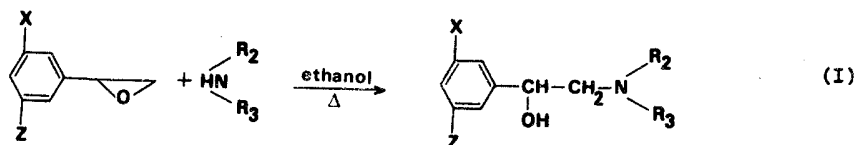
Prostředek podle vynálezu má s výhodou formu přísady do krmiva, injekčního preparátu nebo implantátu.

Přednostními sloučeninami pro použití ke shora uvedeným účelům, tj. jako účinné složky prostředku podle vynálezu, jsou sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce, ve kterých každý ze symbolů X a Z představuje chlor nebo brom, Y představuje vodík nebo skupinu NH_2 , R_1 představuje vodík nebo C_1 až C_4 alkylskupinu a R_4 představuje hydroxyskupinu, a jejich netoxické farmakologicky vhodné soli s kyselinami.

Nejvýhodnějšími sloučeninami pro zvyšování rychlosti růstu zvířat produkujících maso a tím pro zlepšování účinnosti využití potravy jsou:

4-amino-alfa-[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid,
 4-amino-3,5-dibrom-alfa-[(diisopropylamino)metyl]benzylalkoholhydrochlorid,
 4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(diisopropylamino)metyl]benzylalkoholhydrochlorid,
 4-amino-3,5-dibrom-alfa-[(terc.butylamino)metyl]benzylalkoholhydrochlorid,
 4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(metylamino)metyl]benzylalkoholhydrochlorid,
 4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(allylamino)metyl]benzylalkohol,
 4-amino-3-brom-alfa-[(terc.butylamino)metyl]-5-chlorbenzylalkoholhydrochlorid,
 alfa-(4-amino-3,5-dichlorfenyl)-4-morfolinetanolhydrochlorid,
 4-amino-3-brom-alfa-[(terc.butylamino)metyl]-5-chlorbenzylalkoholhydrochlorid a
 alfa-[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid.

Sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce I (Y představuje vodík) se mohou připravit kondenzací vhodně substituovaného styrenoxidu s vhodně substituovaným aminem v přítomnosti inertního rozpouštědla, jako nižšího alkoholu, při teplotě varu nebo v blízkosti varu tohoto rozpouštědla podle následující rovnice:



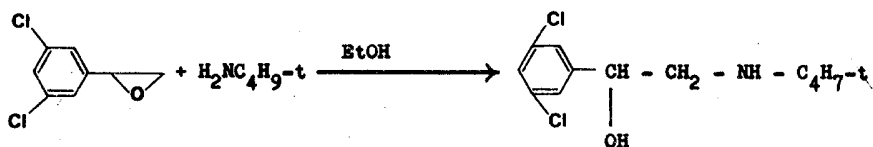
kde

X a Z představují atomy halogenu,

R₂ a R₃ mají shora uvedený význam a

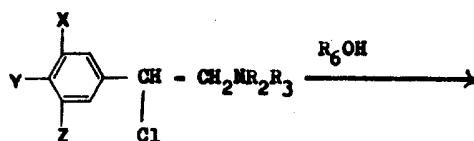
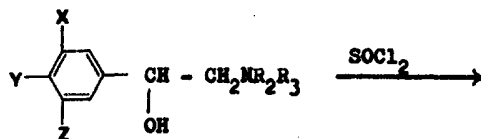
Y je vodík.

Tak se může 3,5-dichlorstyrenoxid nechat reagovat s ekvimolárním množstvím nebo molárním přebytkem terc.butylaminu v etanolu při teplotě refluxu po dobu asi 1 až asi 8 hodin, nebo tak dlouho, dokud není reakce v podstatě skončena. Získá se požadovaný alfa-[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkohol. Reakci ilustruje tato rovnice:



Takto získaný produkt se může přečistit známými postupy, jako například chromatografií nebo překrystalováním jeho soli.

Takto získaná halogenovaná sloučenina se izoluje běžnými laboratorními postupy a pak se nechá reagovat s vhodným alkoholem pod atmosférou inertního plynu, jako dusíku, při teplotě od asi 0 do 5 °C. Takto získaný produkt obecného vzorce I se pak izoluje standardními laboratorními postupy a pak popřípadě přečistí. Shora uvedený postup reakcí lze graficky ilustrovat těmito rovnicemi:



kde

X, Y, Z, R₂, R₃, a R₆ mají shora uvedený význam.

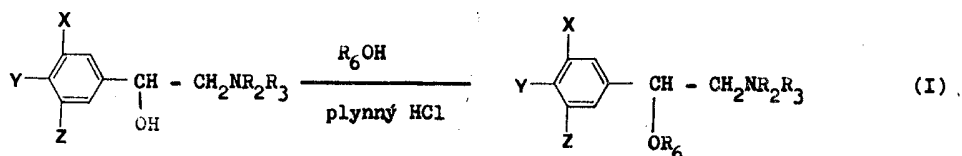
Sloučenina obecného vzorce I, kde R₄ představuje skupinu OR₆ se může alternativně připravit tak, že se odpovídající sloučenina obecného vzorce I, kde R₄ představuje hydroxykupinu, rozpustí v odpovídajícím alkoholu obecného vzorce



kde

R₆ má shora uvedený význam,

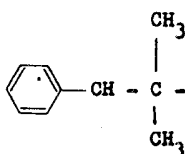
a vzniklý roztok se nasatí plynným chlorovodíkem. Reakční směs se pak míchá při teplotě místnosti po dobu postačující pro praktické dovršení reakce. Produkt se izoluje standardními laboratorními postupy a je-li to žádoucí, přečistí se. Tuto reakci lze ilustrovat následující rovnicí.



kde

X, Y, Z, R₂, R₃ a R₆ mají shora uvedený význam.

Pod označením alfa,alfa-dimetylfenetylskupina se v těchto podlohách s definicí předmětu vynálezu rozumí struktura, kterou lze znázornit vzorcem



Shora definované deriváty fenyletanolaminu a jejich adiční soli s kyselinami jsou při orálním podávání účinné pro povzbuzování rychlosti růstu a zlepšování účinnosti využití stravy shora uvedených zvířat obvykle v dávkě asi 0,01 až 300 g na tunu krmiva.

Vzhledem k tomu, že účinné a přednostně používané koncentrace účinné složky v potravě poněkud kolísají u různých druhů shora uvedených zvířat, jsou tyto koncentrace pro každý druh zvířat uvedeny v následující tabulce I. Koncentrace je udávána v gremech na tunu krmiva.

T a b u l k a I

Sloučenina	Účinná koncentrace v krmivu (g/t)	Přednostní koncentrace (g/t)	Druh zvířete
Sloučenina	0,1 až 300	1 až 200	vepř
obecného	0,1 až 200	1 až 100	ovce, koza
vzorce I	0,01 až 50	0,1 až 10	kuře, králík
	0,01 až 50	0,1 až 10	krůta
	0,1 až 200	1 až 100	hovězí dobytek

Krmivé směsi pro zvířata, poskytující požadované povzbuzení růstu a zvýšení účinnosti využití potravy u shora uvedených zvířat, se mohou vyrobit smísením derivátu fenyletanolaminu nebo jeho adiční soli nebo krmivé přísady obsahující tuto sloučeninu s takovým množstvím vhodného krmiva pro tato zvířata, aby se dosáhlo požadované koncentrace účinné sloučeniny v krmivu.

Krmivé přísady se mohou vyrobit smísením asi 75 až 95 % hmotnostních derivátů fenyletanolaminu nebo jeho adiční soli s asi 5 až asi 25 % hmotnostními vhodného nosiče nebo ředidla. Jako nosiče, které jsou vhodné pro doplnění účinných sloučenin na krmivé přísady lze uvést moučku z vojtěšky, sojovou mouku, moučku z bavlníkových semen, moučku ze semen lnu, chlorid sodný, kukuřičnou mouku, třtinovou melasu, močovinu, kostní moučku, moučku z kukuřičných klasů apod. Nosič podporuje rovnoměrné rozdělení účinné přísady ve výsledné krmivé směsi, se kterou se krmivová přísada mísí. Plní tedy důležitou funkci tím, že zajišťuje řádné rozdělení účinné přísady v krmivu.

Když se krmivé přísady používá k finální úpravě krmiva svrchu, nosič rovněž pomáhá zajistit rovnoměrné rozdělení účinné látky na povrchu upraveného krmiva.

Pro parenterální podávání se může derivát fenyletanolaminu zpracovat do podoby pasty nebo pelety, která se může podávat jako implantát, obvykle pod kůži na hlavě nebo na uchu zvířete, u kterého se má dosáhnout povzbuzení růstu a/nebo zlepšení účinnosti využití krmiva.

V praxi se při parenterálním podávání obvykle zvířeti injikuje takové množství shora uvedeného derivátu fenyletanolaminu, aby zvíře obdrželo dávku 0,001 až 100 mg/kg tělesné hmotnosti účinné přísady. Přednostní úroveň dávky účinného derivátu fenyletanolaminu je pro vepře 0,01 až 50 mg/kg tělesné hmotnosti a pro hovězí dobytek 0,001 až 50 mg/kg tělesné hmotnosti. Přednostní úroveň dávky tohoto derivátu pro drůbež je asi 0,001 až 35 mg/kg tělesné hmotnosti a přednostní úroveň dávky popsaného derivátu fenyletanolaminu pro ovce a kozy je 0,001 až 40 mg/kg tělesné hmotnosti zvířete. Přednostní úroveň dávky pro králíky a domácí zvířata je 0,001 až 35 mg/kg tělesné hmotnosti zvířete.

Pastovité přípravky se mohou připravit dispergováním účinného derivátu fenyletanolaminu ve farmaceuticky vhodném oleji, jako v podzemnicovém oleji, sezamovém oleji, kukuřičném oleji apod.

Pelety obsahující účinnou koncentraci fenyletanolaminového derivátu se mohou připravit smísením této složky s ředidlem, jako uhlovodíkovým voskem, biodegradovatelnými polymery, karnubovým voskem apod. Pro zlepšení peletizačního postupu se může popřípadě přidat masadlo, jako stearat hořečnatý nebo stearat vápenatý.

Je samozřejmé, že zvířeti se může pro dosažení požadované úrovně dávky, která zajistí zvýšenou rychlost růstu a/nebo zlepšenou účinnost využití krmiva, podat více než jedna peleta. Dále se zjistilo, že se zvířatům rovněž mohou zavádět přídatné implantáty periodicky v průběhu doby ošetřování, aby se udržela vhodná rychlost uvolňování účinné látky v těle zvířete.

Kromě toho, že sloučeniny podle vynálezu povzbuzují růst a zlepšují účinnost využití potravy u zvířat produkujících maso, mají ještě přídatnou výhodu, že při zvolené úrovni dávkování potlačují u těchto zvířat ukládání tuku. Tato biologická odezva má podstatnou výhodu pro pěstitele drůbeže a vepřů, poněvadž při podávání shora uvedených sloučenin ve vhodných dávkách se získají jateční zvířata s libovějším masem, za které platí masný průmysl nejvyšší ceny.

Vynález poskytuje různé výhody i chovatelům domácích miláčků nebo veterinářům, kteří se snaží zbavit domácí zvířata nežádoucího tuku. Pěstitelé drůbeže a vepřového dobytka dosáhnou za použití metody podle předloženého vynálezu zvýšených přírůstků libového masa, za které pak při výkupu obdrží vyšší cenu. S překvapením se rovněž zjistilo, že když se sloučeniny podle vynálezu podávají ve zvolených dávkách vepřovému dobytku nebo drůbeži, dosáhne se rovněž podstatného zvýšení účinnosti výkrmu a povzbuzení rychlosti růstu.

Následující příklady blíže objasňují vynález. Příklady mají pouze ilustrativní charakter, ale rozsah vynálezu v žádném směru neomezuje.

Příklad 1

Hodnocení zkoušených sloučenin, jakožto promotorů růstu zvířat

Na pokus se použije samic myši CFL (Carrow Farms). Myši o stáří šesti týdnů se umístí po deseti v klecích v klimatizované místnosti (22,2 až 24,4 °C) s automaticky regulovaným osvětlením - 14 hodin zapnuto, 10 hodin vypnuto. Jako základního krmiva se při těchto pokusech použije laboratorní strava Purina Laboratory Chow (jejíž složení je uvedeno dále), která se myším poskytuje podle chuti bez omezení. Rovněž přísuv vody se myším neomezuje.

Třináct dnů po umístění v klecích se desetičlenné skupiny myši zváží a myši se určí podle náhodného klíče na různé pokusy. Koncentrace různých sloučenin ve stravě je uvedena v následujících tabulkách. Po dalších dvanácti dnech se myši opět zváží a pokus se ukončí. Zkušební data jsou uvedena v následující tabulce II a jsou vyjádřena jako procentuální přírůstek ve srovnání s kontrolní skupinou. Strava použitá pro laboratorní myši, ke které se přidávají účinné sloučeniny (Purina Laboratory Chow) má následující složení:

Strava

Zaručené složení

surová bílkovina ne méně než	23,0 %
surový tuk ne méně než	4,5 %
surová buničina ne více než	6,0 %
popel ne více než	9,0 %

Složky

Masokostní moučka, sušené odstředěné mléko, mouka z pšeničných klíčků, rybí moučka, moučka ze zvířecích jater, sušená buničina z cukrovky, mletá extrudovaná kukurice, ovesné krupky, sojová mouka, moučka ze sušené vojtěšky, třtinová melasa, živočišný tuk konzervovaný BMA, přísada vitamínu B₁₂, pentotenát vápenatý, cholinchlorid, kyselina listová, riboflavinová přísada, sušené pивní kvasnice, tiamin, niacin, přísada vitamínu A, D-aktivovaný rostlinný sterol, přísada vitamínu E, uhličitán vápenatý, střední fosforečnan vápenatý, jodovaná sůl, citran železitomocný, oxid železa, oxid manganatý, uhličitán kobaltnatý, oxid měďnatý, oxid zinečnatý.

T a b u l k a II

Hodnocení skoušených sloučenin jako promotorů růstu zvířat

Dávka	Počáteční hmotnost myši (g)	Konečná hmotnost myši (g)	Přírůstek (g)	Přírůstek vzhledem ke kontrolním myším (%)
4-amino-alfa- -[(terc.butyl- aminometyl)- -3,5-dichlor- benzylalkohol- hydrochlorid Obsah ve stravě (ppm)				
0	23,46	24,67	1,21	
	23,46	24,49	1,03	
	22,79	24,62	1,83	
	24,10	25,98	1,88	
	24,23	25,52	1,29	
	23,63	24,93	1,30	
	23,33	24,76	1,43	
	22,75	23,86	1,11	
Průměrná hod- nota kontrol- ní skupiny	23,47	24,85	1,39	
50	22,95	25,63	2,68	
	23,91	26,14	2,23	
	24,26	26,30	2,04	
Průměr	23,71	26,02	2,32	+66,9
100	23,50	25,39	1,89	
	23,80	26,04	2,24	
	23,00	25,65	2,65	
Průměr	23,43	25,69	2,26	+62,6
200	23,03	24,80	1,77	
	24,50	26,12	1,62	
	23,08	25,04	1,96	
Průměr	23,54	25,32	1,78	+28,1

Shora popsaný postup se opakuje za použití různých promotorů růstu podle vynálezu. Při každém pokusu se použije kontrolních zvířat. Dvanáct dnů po zahájení zkoušky se zvířata zvaží a zkoušky se skončí. Výsledky testů jsou uvedeny v následující tabulce III, jakožto hmotnostní přírůstek, každé zkoušené skupiny a percentuální přírůstek zkoušené skupiny vzhledem ke kontrolní skupině myši.

T a b u l k a III

Hodnocení zkoušených sloučenin jako promotorů růstu zvířat

Sloučenina	Dávka [ppm]	Hmotnostní přírůstek [g]	Percentuální přírůstek vzhledem ke kontrolní skupině [%]
4-amino-3,5-dibrom-alfa-[(terc.butylamino)-metyl]benzylalkoholhydrochlorid	400	16,5	+22,2
	200	20,4	+51,1
	100	22,9	+69,0
	50	23,3	+72,6
4-amino-3,5-dibrom-alfa-[(diisopropylamino)-metyl]benzylalkoholhydrochlorid	200	20,2	+46,4
	100	16,9	+22,5
p-amino-alfa-[(dimethylamino)metyl]-benzylalkohol	200	17,6	+28,3
	100	15,6	+13,0
p-amino-alfa-[(diisopropylamino)metyl]-benzylalkoholhydrochlorid	200	16,5	+18,7
	100	14,2	+ 2,2
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(dimethylamino)-metyl]benzylalkoholhydrochlorid	100	18,4	+ 7,6
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(diisopropylamino)-metyl]benzylalkoholhydrochlorid	200	23,9	+66,0
	100	21,3	+47,9
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(cyklohexylamino)-metyl]benzylalkoholhydrochlorid	200	19,3	+48,5
	100	16,3	+25,4
p-amino-alfa-[(terc.butylamino)metyl]-benzylalkohol	200	19,6	+88,5
	100	18,2	+75,0
	50	17,9	+72,1
	25	13,6	+30,8
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(methylamino)metyl]-benzylalkoholhydrochlorid	200	15,6	+54,5
	100	18,9	+87,1
p-amino-alfa-[(methylamino)metyl]benzylalkoholhydrochlorid	100	14,8	+18,4
alfa-(4-amino-3,5-dichlorfenyl)-4-morfolinethanolhydrochlorid	200	15,9	+34,7
	100	14,0	+18,6
4-amino-alfa-[(sek.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkohol	200	13,2	+16,8

Sloučenina	Dávka [ppm]	Hmotnostní přírůstek [g]	Percentuální přírůstek vzhledem ke kontrolní skupině [%]
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(3-metoxypropyl)- amino]metylbenzylalkohol	200 100	15,4 23,0	+23,2 +84,0
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(diallylamino)metyl]- benzylalkoholhydrochlorid	200 100	17,4 18,4	+39,2 +47,2
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(benzylemino)- metyl]benzylalkoholhydrochlorid	200	10,6	+19,1
4-amino-alfa-[(butylamino)metyl]-3,5- -dichlorbenzylalkohol	100	14,6	+64,0
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(4-metyl-1- -piperazinyl)metyl]benzylalkohol	200 100	9,4 9,5	+ 5,6 + 6,7
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(isopropylamino)- metyl]benzylalkohol	200 100	13,1 18,9	+26,0 +81,7
4-amino-alfa-(aminometyl)-3,5-dichlor- benzylalkoholhydrochlorid	100	13,4	+19,0
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(hexylemino)- metyl]benzylalkohol	200 100	16,8 19,2	+15,9 +32,8
alfa-[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlor- benzylalkoholhydrochlorid	200 100	19,3 20,2	+33,1 +39,3
4-amino-3,5-dichlor-alfa-[(diethylamino)- metyl]benzylalkoholhydrochlorid	100	17,5	+20,7
alfa-[(allylemino)metyl]-4-amino-3,5-di- chlorbenzylalkohol	200 100	16,8 17,1	+118,2 +122,1
4-amino-alfa-(anilinometyl)-3,5-dichlor- benzylalkohol	200 100	20,7 17,5	+25,5 + 6,1
4-amino-alfa-[1-terc.butylamino)etyl]-3,5- dichlorbenzylalkoholhydrochlorid	200 100	22,7 23,8	+37,6 +44,5
4-amino-3-brom-alfa-[(terc.butylamino)- metyl]-5-chlorbenzylalkoholhydrochlorid	200 100	18,5 19,5	+60,9 +69,6
alfa-[(terc.butylamino)metyl]-m-hydroxy- benzylalkoholhydrochlorid	200 100	15,8 19,9	+ 9,0 +37,2
alfa-[(isopropylamino)metyl]-m-hydroxy- benzylalkoholhydrochlorid	400 200 100	- - -	+54,4 +53,0 +39,7

Sloučenina	Dávka [ppm]	Hmotnostní přírůstek [g]	Percentuální přírůstek vzhledem ke kontrolní skupině [%]
alfa-[(amino)metyl]-m-hydroxybenzylalko- holhydrochlorid	200 100	- -	+ 4,4 +30,7
4-amino-N-terc.butyl-3,5-dichlor-beta- -metoxyfenetylhydrochlorid	200 50	18,8 21,6	+37,2 +57,7

Příklad 2

Hodnocení sloučenin jako promotorů růstu zvířat

Pro hodnocení se použije postupu popsaného v příkladě 1. Strava je stejná jako v tomto příkladě a výsledky jsou vyjádřeny jako percentuální přírůstky ve srovnání s kontrolními zvířaty.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce IV.

Tabulka IV

Hodnocení zkoušených sloučenin jako promotorů růstu zvířat

Dávka	Počáteční hmotnost myši (g)	Konečná hmotnost myši (g)	Přírůstek (g)	Percentuální přírůstek vzhledem ke kontrolním myším (%)
4-amino-alfa-(terc.butyl- aminometyl)-3,5-dichlor- benzylalkoholhydrochlorid				
Obsah ve stravě (ppm)				
0	24,49 24,25 23,65 22,83 24,39 24,36 23,11 23,54	25,17 26,06 25,43 24,33 25,59 26,06 24,50 24,82	0,68 1,81 1,78 1,50 1,20 1,70 1,39 1,28	
Průměrná hodnota kontrolní skupiny	23,83	25,25	1,42	
200	23,46 23,68 23,56	25,49 25,97 25,40	2,03 2,37 1,84	
Průměr	23,57	25,62	2,05	+44,4

P ř í k l a d 3

Hodnocení zkoušených sloučenin jako krmivových přísad pro povzbuzení rychlosti růstu drůbeže

Jednodenní kuřata (Hubbard X Hubbard Crossbred Chicks) se podle náhodného klíče rozdělí do ohrádek vždy po 10 kuřatech (5 sameček a 5 samiček).

Osmi ohrádek s kuřaty se používá jako kontrolních skupin, kterým se nepodává žádná účinná látka a pro každou úroveň dávky promotoru růstu se používá čtyř ohrádek s kuřaty. Doba pokusu je 28 dnů.

Kontrolní zvířata dostávají neupravenou stravu Broiler Ration No. 453 (složení viz dále) a vodu ad libitum. Ošetřovaným kuřatům se podává stejné krmivo obsahující zkoušenou látku v množství uvedeném dále a vodu rovněž ad libitum. Hmotnost kuřat se určuje na počátku a po skončení pokusu. Rovněž se určí hmotnostní přírůstek a množství zkonzumovaného krmiva. Získaná data se zprůměrují a jsou sumárně uvedena v následující tabulce V, kde jsou uvedeny hodnoty procentuálního zlepšení hmotnostního přírůstku a hodnoty poměru krmivo/hmotnostní přírůstek.

Složka		Obsah (% hmotnosti)
mletá kukuřice žluté zralosti		53,45
sojová olejovitá mouka (49 %)		28,00
rybí moučka ze sledů (60 %)		5,00
kukuřičná škrobová mouka (60 %)		5,00
moučka ze sušené vojtěšky (17 %)		2,00
stabilizovaný tuk		4,00
střední fosforečnan vápenatý		1,20
mletý vápenec		0,50
chlorid sodný		0,30
směs stopových prvků ⁺		0,05
vitaminový premix ⁺⁺		0,50
		100,00
Směs stopových prvků (%)		0,5 kg/t poskytuje (ppm)
mangan	12,50	62,5
železo	6,00	30,0
zinek	5,00	25,0
měď	0,65	3,25
jod	0,35	1,75
kobalt	0,25	1,25
vápník minimálně	15,30	
vápník maximálně	17,35	

Vitamínový Premix na 1 tunu	Navážka v gramech
DL metionin	453,6
BHT (butylovaný hydroxytoluen)	113,6
vitamin A (30 000 µg/g)	100,0
vitamin D ₃ (200 000 µg/g)	5,0
vitamin E (44 150 µg/kg)	45,4
Riboflavin	4,0
Niacinamid	25,0

T a b u l k a V

Střední hmotnostní přírůstek a účinnost krmiva u kontrolních kuřat a kuřat ošetřených
zkoušební látkou - třináctidenní zkouška

Podávaná zkoušená látka	Obse h ve stravě (ppm)	Střední přírůstek (g)	Percentuální přírůstek vzhledem ke kontrolním kuřatům (%)	Krmivo /pří- růstek	Zlepšení oproti kontrolním ku- řatům (%)
Kontrolní pokus	0	266,5	-	1,40	-
4-amino-α[(terc.butylemino)- metyl]-3,5-dichlorbenzylalkohol	0,3	271,8	+2,0	1,40	0
	0,6	274,3	+2,9	1,38	+1,4
	1,25	259,9	-2,5	1,41	-0,7
	2,5	260,8	-2,1	1,39	+0,7
	5,0	251,9	-5,5	1,40	0
4-amino-3,5-dibrom-α[(terc.- butylemino)metyl] benzylalko- holhydrochlorid	0,3	270,8	+1,6	1,40	0
	0,6	271,8	+2,0	1,38	+1,4
	1,25	267,5	+0,4	1,39	+0,7
	2,5	265,2	-0,5	1,38	+1,4
	5,0	270,3	+1,4	1,37	+2,1

P ř í k l a d 4

Modnocení zkoušených sloučenin jako antilipogenních činidel - zkoušky na myších

Na pokus se použije ssmiček myši CFL (Carworth Farms). Myši o stáří šesti týdnů se umístí po deseti v klecích v klimatizované místnosti (22,2 až 24,4 °C) s automaticky regulovaným osvětlením - 14 hodin zapnuto, 10 hodin vypnuto. Jako základního krmiva se při těchto pokusech použije laboratorní stravy Purina Laboratory Chow (jejíž složení je uvedeno dále), která se myším poskytuje podle chuti bez omezení. Rovněž přívod vody se myším neomezuje. Strava použitá pro laboratorní myši, ke které se přidávají účinné sloučeniny (Purina Laboratory Chow) má následující složení:

Strava

Zaručené složení:	surová bílkovina ne méně než	23,0 %
	surový tuk ne méně než	4,5 %
	surová buničina ne více než	6,0 %
	popel ne více než	9,0 %

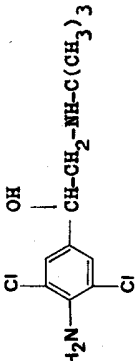
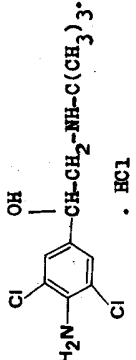
Složky

Masokostní moučka, sušené odstředěné mléko, mouka z pšeničných klíčků, rybí moučka, moučka ze zvířecích jater, sušená buničina z cukrovky, mletá extrudovaná kukuřice, ovesné krupky, sojová mouka, moučka ze sušené vojtěšky, třtinová melasa, živočišný tuk konzervovaný BHA, přísada vitamínu B₁₂, pentotenát vápenatý, cholinchlorid, kyselina listová, riboflavinová přísada, sušené pивní kvasnice, tiamin, niacin, přísada vitamínu A, D-aktivovaný rostlinný sterol, přísada vitamínu E, uhličitán vápenatý, střední fosforečnan vápenatý, jodovaná sůl, citran železitomonný, oxid železa, oxid manganatý, uhličitán kobaltnatý, oxid měďnatý, oxid zinečnatý.

Třináct dnů po umístění v klecích se desetičlenné skupiny myši zváží a myši se určí podle náhodného klíče na různé pokusy. Koncentrace různých sloučenin ve stravě je uvedena v následujících tabulkách. Po dalších dvanácti dnech se myši opět zváží a pokus se ukončí. Při každé zkoušce se užije alespoň tři klece (30 myši) jako kontrolních zvířat. Zkušební data jsou uvedena v tabulce VI a jsou vyjádřena jako procentuální podíl tělesné hmotnosti tvořený tukem, procentuální změna množství tělesného tuku ve srovnání s kontrolními zvířaty a jako procentuální hmotnostní přírůstek v gramech vatažený na myš.

T a b u l k a VI

Hodnocení antilipogenního účinku a účinku povzbuzujícího růst zvířat na myších

Sloučenina	Konzentrace ve stravě (ppm)	Počet myší použitých na zkoušku	Průměrná počáteční hmotnost (g)	Průměrná konečná hmotnost (g)	Hmotnostní přírůstek vztažený na myš (g)	Podíl tělesné hmotnos- ti tvo- řený tu- kem (%)	Změna množství tuku ve srovnání s kontrol- ními zví- řaty (%)
	0	50	23,6	25,0	1,4	11,95	--
	50	30	23,7	26,0	2,3	11,95	0
	100	30	23,4	25,7	2,3	10,23	-14,40
	200	30	23,5	25,3	1,8	10,50	-12,13
	400	30	23,4	24,9	1,4	9,10	-23,80
	0	50	23,6	25,0	1,4	11,95	-
	50	30	23,7	26,0	2,3	11,95	0
	100	30	23,4	25,7	2,3	10,23	-14,40
	200	30	23,5	25,3	1,8	10,50	-12,13
	400	30	23,4	24,9	1,4	9,10	-23,80

Určování podílu tělesné hmotnosti tvořeného tukem

A) Příprava trupů

Z každé myši se vyjme žaludek a střeva. Všechny ostatní části těla, včetně kůže a kožehyby se ponechají neporušené. Každá klec s myšmi (10) se zváží a vloží do 1 000 ml kádinky a 30 minut se autoklávuje při 120 °C (103,06 kPa). Trupy z každé klece se pak smísí a homogenizují. Homogenát se zváží a odeberou se z něho duplicitně pětigramové vzorky pro analýzu.

B) Analýza tuku

Ke každému pětigramovému vzorku homogenátu získaného ve stupni A se přidá 15 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a směs se dobře promísí. Vzorky se zahřívají 2 hodiny na vodní lázni o teplotě 84 °C. Tuk se extrahuje 30 ml petroléteru (dvakrát 15 ml petroléteru). Směs s petroléterem se dobře promísí v mixéru Vortex. Vodná vrstva se oddělí od organické vrstvy nízkootáčkovým odstřeďováním a petroléterová vrstva (obsahující tuk) se převede do zvážných 30ml kádinek. Po odpaření do sucha se kádinky obsahující tuk znovu zváží, aby se určilo množství tuku v gramech na 5 gramů homogenátu. Percentuální obsah tuku v trupu se vypočítá podle tohoto vzorce:

$$\text{percentuální obsah tuku v trupu (\%)} = \frac{[\text{obsah tuku ve vzorku (g)}] \cdot [\text{celkové množství homogenátu (g)}]}{[\text{navážka vzorku (g)}] \cdot [\text{hmotnost myších trupů (g)}]} \cdot 100$$

Příklad 5

Antilipogenní hodnocení zkoušených sloučenin, studie na myších

Samičky CFI myši, 55 dnů staré, se rozváží do skupin po 10 a umístí v klecích tak, aby hmotnostní rozdíl myši v jednotlivých klecích byl co nejmenší. Zkoušky se provádějí s jednotlivými klecemi podle nepravidelného klíče.

Každá zkouška se třikrát opakuje, tj. vždy se použije tři klece po 10 myších. Pro kontrolní účely slouží 10 klecí po 10 myších. Zkoušené látky se smísí se stravou v dále uvedené dávce. Strava a voda se během dvanáctidenní zkušební periody poskytuje myším bez omezení (ad libitum). Rozsypané krmivo se během doby trvání testu sbírá. Na konci zkušebního období se zváží sebrané krmivo a v každé zkoušce se určí střední konzumace krmiva vztažená na klec a deseti myšmi. Celá skupina deseti myši se najednou zváží a určí se hmotnostní přírůstek. Myši se usmrtí zlomením vazy. Každé myši se odejme pravý děložní tukový polštář. Tukové polštáře deseti myši z jedné klece se vždy zváží najednou.

Aby se stanovila korelace mezi percentuálním snížením hmotnosti tukových polštářů ošetřovaných zvířat, určí se u zvířat z několika ošetřovaných skupin celkový obsah tělesného tuku za použití metody stanovení tělesného tuku popsané v příkladě 5. Získaná data jsou uvedena v tabulce VII u těch skupin, u kterých bylo toto určování prováděno. Z percentuálního snížení hmotnosti tukových polštářů a z určení celkového obsahu tuku v trupu myši u zkoušených skupin je zřejmé, že snížení hmotnosti tukových polštářů u zvířat obvykle ukazuje na snížení obsahu tělesného tuku u ošetřovaných zvířat.

T a b u l k a VII

Antilipogenní hodnocení zkoušených sloučenin - studie na myších

Sloučenina	Dávka (ppm)	Percentuální snížení hmotnosti tukových polštářů s ohledem na kontrolní myši (%)	Percentuální snížení obsahu tělesného tuku vzhledem ke kontrolním myším (%)
4-amino-3,5-dibrom- α -[(terc.butylemino)metyl]-benzylalkoholhydrochlorid	400 200 100	-21,4 -27,5 ⁺ -13,9 ⁺	-14,6 -18,4 ⁺ - 5,3 ⁺
4-amino-3,5-dibrom- α -[(diisopropylamino)metyl]-benzylalkoholhydrochlorid	200	-11,1	- 9,4
4-amino- α -[(terc.butylemino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid	400 200 100	-50,0 -28,1 -37,9	-23,8 -12,1 -14,4
4-amino-3,5-dichlor- α -[(methylamino)metyl]-benzylalkoholhydrochlorid	200 100	-14,7 - 8,8	- 9,9 -11,5
4-amino-3,5-dichlor- α -[(diethyl)metyl]benzylalkoholhydrochlorid	200 100	-64,7 -41,2	
4-amino- α -[(sek.butylemino)metyl]3,5-dichlorbenzylalkohol	200 100	-56,2 -18,2	-36,3 -19,3
4-amino-3,5-dichlor- α -[(diallylemino)metyl]-benzylalkoholhydrochlorid	200	-12,0	
4-amino-3,5-dichlor- α -[(benzylemino)metyl]-benzylalkoholhydrochlorid	200 100	-17,7 -21,1	- 5,4 - 1,7
4-amino- α -[(butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkohol	200 100	-21,54 -24,7	-16,78 -13,08
4-amino-3,5-dichlor- α -[(isopropylamino)metyl]-benzylalkohol	200 100	-50,2 -36,9	-25,5 -20,4
α -[(allylamino)metyl]-4-amino-3,5-dichlorbenzylalkohol	200 100	-16,5 -18,3	
4-amino- α -[1-(terc.butylemino)etyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid	100	-18,8	
α -[(terc.butylemino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid	200 100	-22,5 -14,8	

Sloučenina	Dávka (ppm)	Percentuální snížení hmotnosti tukových polštářů s ohledem na kontrolní myši (%)	Percentuální snížení obsahu tělesného tuku vzhledem ke kontrolním myším (%)
4-amino-3-brom- α -[(terc.butylamino)metyl]-5-chlorbenzylalkoholhydrochlorid	200 100	-17,8 -18,7	
m-hydroxy- α -[(isopropylamino)metyl]benzylalkohol	400 200 100	-19,8 -26,2 - 7,5	
4-amino-N-terc.butyl-3,5-dichlorfenetylaminhydrochlorid	50	-24,8	
4-amino-3,5-dichlor- α -[(cyklopropylamino)metyl]benzylalkohol	100	-30,7	
4-[2-(terc.butylamino)-1-hydroxyetyl]-2'-chloracetanilid	200 100	- 6,7 -12,1	
4-amino-3,5-dichlor- α -[(cyklopentylamino)metyl]benzylalkohol	200 50	-24,5 - 4,7	
4-amino-3,5-dichlor- α -[(2-hydroxyetyl/amino)metyl]benzylalkohol	200 50	-15,2 - 7,4	
4-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dijodbenzylalkoholhydrochlorid	200 100	-32,6 -26,6	
4-amino-N-terc.butyl-3,5-dichlor- β -metoxyfenetylaminhydrochlorid	200 50	-13,4 -21,7	
+ průměr ze dvou zkoušek			

Příklad 7

Antilipogenní hodnocení zkoušených sloučenin, studie na kryších

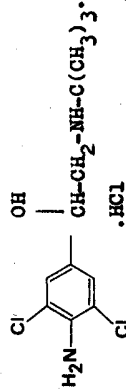
Používá se postupu a krmiva používaného pro vyhodnocování antilipogenního účinku zkoušených sloučenin na myších, popsaného v příkladu 1, s tím rozdílem, že doba ošetřování je 14 dnů a používá se 10 kryš, umístěných v klecích vždy po jedné.

Percentuální podíl tělesné hmotnosti tvořený tukem se určuje stejným způsobem jako v příkladě 4 pouze s tím rozdílem, že se před homogenizací kryších trupů odstraní z těla kůže a vnitřní orgány.

Výsledky této studie jsou uvedeny v tabulce VIII, která následuje.

T a b u l k a VIII

Hodnocení antilipogenního účinku a účinku na povzbuzení rychlosti růstu zkoušených sloučenin u krys

Sloučenina	Obsah účinné složky v krmivu (ppm)	Počet ošetřovaných krys	Průměrná počáteční hmotnost (g)	Průměrná konečná hmotnost (g)	Průměrný přírůstek na jednoho krysu (g)	Percentuální podíl tuku v trupu zbaveném vnitřností (%)	Změna množství tuku vzhledem ke kontrolní skupině (%)
	0	10	72,7	149,1	76,4	4,67	-
	25	10	78,3	159,3	81,0	3,04	-34,9
	100	9	76,6	159,8	83,2	2,54	-42,0
	400	10	73,2	146,4	73,2	2,71	-45,6

P ř í k l a d 8

Vyhodnocování zkoušených sloučenin, jako krmivových přísad pro povzbuzení rychlosti růstu a zlepšení účinnosti využití potravy u myši

Čtyři týdny staré samičky krysy (rozměr 5 g) (Charles River Breeding Laboratories, Wilmington, Massachusetts) se umístí po dvou v klecích umístěných v klimatizované místnosti (22,2 až 24,4 °C) s automaticky regulovaným osvětlením - 14 hodin zapnuto, 10 hodin vypnuto. Jako základního krmiva se použije při těchto pokusech laboratorní stravy, Purina Laboratory Chow, která se krysám poskytuje podle chuti bez omezení. Ani přísuv vody se myším neomezuje.

Čtyři dny po umístění v klecích se zvířata zvážívají a rozdělí dokušebních skupin tak, aby rozdíl ve hmotnosti skupin byly co nejmenší. V každé ošetřované skupině je 10 krys. Zkoušené látky se podávají ve stravě, kde jsou obsaženy v koncentraci 2 ppm, 10 ppm a 50 ppm, po dobu 12,5 týdne. Zvířata se každý týden váží a spotřeba se opraví podle množství, které zvířata rozsypanou. Množství rozsypaného krmiva se denně zaznamenává. Výsledky zkoušení jsou uvedeny v tabulce IX, která následuje.

T a b u l k a IX

Vyhodnocování zkoušených sloučenin, jakožto krmivových přísad pro povzbuzení rychlosti růstu a pro zlepšení účinnosti využití krmiva u myši

Zkoušená sloučenina	Dávka (ppm)	Přírůstek ^{a)} (g)	Spotřeba krmiva ^{b)} (g)	Poměr krmiva/přírůstek (procentuální zlepšení vzhledem ke kontrolním krysám (%))
Kontrolní pokus		157	1 304	8,31
4-amino- α -(terc.butylaminometyl)-	2	178 (+13,4%)	1 443 (+10,7%)	8,11 (+2,4%)
-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid	10	186 (+18,5%)	1 467 (+11,5%)	7,89 (+5,1%)
	50	175 (+11,5%)	1 394 (+ 6,9%)	7,97 (+4,1%)
4-amino-3,5-dibrom- α -[(terc.butylamino)-	2	164 (+4,5%)	1 362 (+4,5%)	8,3 (0,1%)
metyl] benzylalkoholhydrochlorid	10	185 (+7,8%)	1 459 (+11,9%)	7,89 (+5,1%)
	50	184 (+17,2%)	1 416 (+8,6%)	7,70 (+7,3%)

a) Uvedené hodnoty představují průměrný přírůstek v gramech, vztažený na jednu krysou, za celou dobu pokusu.

b) Uvedené hodnoty představují průměrnou spotřebu krmiva, vztaženou na jednu krysou, za celou dobu pokusu.

P ř í k l a d 9

 α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid

Rostok obsahující 3,5 g 3,5-dichlorstyrenoxidu v 50 ml absolutního etanolu a 20 ml terc.butyleminu se mírně vaří pod zpětným chladičem po dobu 8 hodin a pak se směs odpaří do sucha. Vzniklý čirý žlutý sirup se rozpustí v 75 ml etanolu a 25 ml vody, roztok se ochladí na 5 °C a okyslí 3N kyselinou chlorovodíkovou. Rostok se odpaří za vakua do sucha a zbylá pevná bílá látka se překrystaluje z acetonu. Získá se 2,81 g látky o teplotě tání 218 až 221 °C.

Analýza pro $C_{12}H_{17}NOCl_2 \cdot HCl$:

vypočteno: 48,26 % C, 6,08 % H, 4,69 % N;

nalezeno: 48,49 % C, 6,17 % H, 4,66 % N.

Volná báze titulní sloučeniny se získá neutralizací titulní sloučeniny vodným 10% hydroxidem sodným. Jiné soli volné báze se pak získají tak, že se na volnou bázi při shora uvedeném postupu (vodný etanol) působí příslušnými kyselinami, jako kyselinou sírovou, kyselinou ortofosforečnou, kyselinou dusičnou, kyselinou metansulfonovou, kyselinou toluensulfonovou a kyselinou pamoovou.

Intermediární 3,5-dichlorstyrenoxid potřebný pro přípravu titulní sloučeniny se připraví redukcí 28,4 g 3,5-dichlorfenacylbromidu ve 125 ml absolutního etanolu při 5 °C působením 8 g natriumborhydridu, který se přidává po částech. Po skončení přidávání hydridu se reakční směs 16 hodin míchá při teplotě okolí, které se dosáhne tím, že se postupně nechá přes noc roztát led v ledové lázni, do které byla původně reakční banka ponořena. Přebytek hydridu se rozloží přidávkou 100 ml vody, vodná směs se ochladí na 5 °C a opatrně okyslí koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH 3. Směs se extrahuje 300 ml metylenchloridu, extrakt se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje a odpaří za vakua do sucha. Získá se epoxid ve formě čirého žlutého oleje.

Intermediární fenacylbromid pro shora uvedený styrenoxid se připraví bromací 10 g 3,5-dichloracetofenonu ve směsi 50 ml chloroformu a 50 ml etylacetátu pomocí 23,6 g bromidu měďnatého. Směs se vaří 2,5 hodiny pod zpětným chladičem a pak se ochladí na teplotu místnosti. Pak se směs 16 hodin míchá při teplotě místnosti, chladí se 2 hodiny ledem a přefiltruje se. Filtrační koláč se promyje 50 ml chloroformu. Spojené filtráty se dvakrát odbarví aktivním uhlím, přefiltrují a odpaří do sucha za vakua. Získá se oranžový olej tvořený 3,5-dichlorofenacylbromidem.

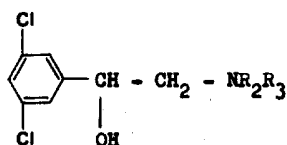
P ř í k l a d 10

Následující 3,5-dichlorfenyl sloučeniny (A), které se podobají titulní sloučenině z příkladu 9, se připraví způsobem popsaným v příkladu 9 s tím rozdílem, že se místo terc.butyleminu použije aminů obecného vzorce



kde

R_2 a R_3 mají dále uvedený význam.



Sloučenina	A	
	R ₂	R ₃
1	H	H
2	H	CH ₃
3	H	C ₂ H ₅
4	H	i-C ₃ H ₇
5	H	n-C ₃ H ₇
6	H	n-C ₆ H ₁₃
7	H	cyklohexyl
8	H	CH ₂ -CH=CH ₂
9	H	CH ₂ -CH=CH-CH ₃
10	H	CH ₂ C=CH
11	H	fenyl
12	H	metoxypropyl
13	H	benzyl
14	CH ₃	CH ₃
15	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
16	CH ₂ CH=CH ₂	CH ₂ CH=CH ₂
17	i-C ₃ H ₇	i-C ₃ H ₇
18	CH ₂ -CH=CH ₂	-CH ₂ -CH=CH ₂
19	H	cyklopropyl
20	-CH ₂ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₂ -	
21	H	n-butyl
22	H	C(CH ₃) ₂ -CH ₂ - 

P ř í k l a d 11

α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dibrombenzylalkoholhydrochlorid

Titulní sloučenina se připraví z 3,5-dibromstyrenoxidu stejným způsobem, jako je způsob popsáný v příkladu 9. Výchozí látky pro tento styrenoxid se připraví podobným způsobem z výchozího 3'-5'-dibromacetofenonu.

Odpovídající α -[(isopropylamino)metyl]-3,5-dibrombenzylalkoholhydrochlorid se připraví tak, že se použije isopropylaminu místo terc.butylaminu.

P ř í k l a d 12

m-hydroxy- α -[(isopropylamino)metyl]benzylalkoholhydrochlorid

Ve 135 ml 95% etanolu se 5 hodin za míchání vaří pod zpětným chladičem 36,75 g m-hydroxyacetofenonu, 36,5 g benzylchloridu, 1,75 g jodidu draselného a 24,6 g uhlíčitenu draselného. Směs se ochladí a za vakua odpaří, aby se odstranil etanol, a přidá se 100 ml vody. Pak se směs extrahuje třikrát dietyléterem. Získá se 350 ml extraktu, který se promyje 50 ml vody, nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitenu sodného (2 x 50 ml), 50 ml vody a nakonec 50 ml nenasyceného roztoku chloridu sodného. Filtrát se vysuší síranem sodným a odpaří do sucha. Olej získaný jako zbytek se predestiluje.

Získá se 49,13 g m-benzylxyacetofenonu o teplotě varu 145 až 147 °C/26,7 Pa. 186 g tohoto acetofenonu se bromuje 349 g bromidu měďnatého ve směsi 1 litru chloroformu a 1,5 litru etanolu, která se zahřívá na teplotu varu. Vzniklý bromovodík se odstraňuje proplachováním dusíkem. Po 4 hodinách se směs přefiltruje a filtrační koláč se promyje chloroformem (2 x 100 ml). Filtrát se za vakua odpaří. Získaný olej se rozpustí ve 200 ml absolutního etanolu (2 x 50 ml) a vysuší.

Získá se 64,28 g m-benzylxyfenacylbromidu o teplotě tání 57 až 58 °C. Dalším chlazením filtrátu se získá 34 g produktu. Vzorek fenacylbromidu o hmotnosti 64 g se přidá k míchané směsi obsahující 212 ml isopropylaminu ve 425 ml etanolu pod atmosférou dusíku při 5 °C. Teplota vzroste na 12 °C a získá se čirý roztok. Rostok se vlije na led (2 litry) obsahující 500 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a 1 500 ml vody. Směs se míchá 20 minut, pak se přefiltruje a pevná látka se promyje vodou. Po vysušení se získá 98,64 g produktu o teplotě tání 200 až 203 °C za rozkladu. Pevná látka se rozpustí ve 400 ml vroucího metanolu pod zpětným chladičem, přidá se 400 ml isopropylalkoholu a roztok se zkoncentruje na 400 ml.

Směs se ochladí a oddělí se krystaly, které jsou tvořeny ketoaminem o teplotě tání 213 až 215 °C za rozkladu (54,36 g). Tato látka (16 g) se přidá ke 150 ml metanolu, který obsahuje 2 g 5% paladiovaného uhlí a směs se hydrogenuje v Paarově bombě za přetlaku 288,5 kPa vodíku. Směs se přefiltruje a filtrát se odpaří. Zbytek se smíchá s 50 ml isopropylalkoholu a odpaří do sucha. Získá se sirup, který se mísí se 100 ml etanolu. Krystaly se oddělí, promyje dietyléterem a vysuší. Získá se 10,77 g titulní sloučeniny o teplotě tání 129 až 132 °C.

Když se použije terc.butylaminu místo isopropylaminu, získá se m-hydroxy- α -[(terc.-butylamino)metyl]benzylalkoholhydrochlorid o teplotě tání 150 až 154 °C (rozklad). Když se místo isopropylaminu použije diisopropylaminu, benzylaminu nebo allylaminu, získá se hydrochlorid m-hydroxy- α -[(diisopropylamino)metyl]benzylalkoholu, m-hydroxy- α -[(benzylamino)metyl]benzylalkoholu nebo m-hydroxy- α -[(allylamino)metyl]benzylalkoholu.

P ř í k l a d 13

4-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dijodbenzylalkoholhydrochlorid

V 10 ml kyseliny octové se míchá 0,42 g p-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-benzylalkoholu pod dusíkovou atmosférou a k roztoku se přidá 0,48 g N,N-dichlorbenszensulfonamidu a 0,6 g jodidu sodného a směs se míchá pod dusíkovou atmosférou 20 minut. Po 3 dnech se směs vlije na led a alkalizuje se 50% vodným hydroxidem sodným. Směs se extrahuje metylenchloridem (3 x 25 ml) a chromatografuje na silikagelové desce za použití systému obsahujícího 1 % hydroxidu amonného a 20 % metanolu v metylenchloridu. Získá se 0,22 g titulní sloučeniny. Reakce se opakuje ve větším měřítku (8x) a eluovaný surový produkt se rozpustí ve 100 ml směsi etanolu a 10 ml vody, směs se promíchá a přidá se 10% kyselina chlorovodíková až do dosažení pH 3.

Směs se za vakua odpaří do sucha. Přidá se isopropylalkohol a směs se odpaří do sucha. Postup se opakuje dvakrát a zbytek se nechá vykristalovat ze směsi metanolu a isopropylalkoholu. Přitom se postupuje tak, že se nechá metanol odpařit až do vzniku krystalů (metanolu se použije pro rozpuštění surové látky před přidáním isopropylalkoholu). Po ochlazení se získají 2 g titulní sloučeniny o teplotě tání 187 °C za rozkladu.

Analýza pro $C_{12}H_{19}ClI_2N_2O$:

vypočteno: 29,02 % C, 2,86 % H, 5,64 % N;
nalezeno: 29,11 % C, 3,64 % H, 5,64 % N.

P ř í k l a d 14

 α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholhydrochlorid

V tomto příkladě je uveden alternativní postup pro získání titulní sloučeniny a sloučenin popsaných v příkladu 9. 10 g 4-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholu se přidá ke 100 ml 50 až 52% kyseliny ortofosforečné, směs se míchá a chladí na 8 °C v ledové lázni a přidá se během 65 minut 2,77 g dusitanu sodného v 15 ml vody. Směs se napění. Tvorba pěny se potlačuje silikonovou protipěnovou přísadou. Po 20 minutách se směs přestane chladit a míchá se další 2 hodiny. Pak se směs vlije do směsi ledu a vody a přidává se 50% vodný roztok hydroxidu sodného tak dlouho, dokud není směs alkalická.

Alkalická směs se extrahuje metylenchloridem (3x) za vzniku 200 ml roztoku, který se promyje 25 ml 2% roztoku hydroxidu sodného, vysuší síranem hořečnatým a odpaří za vakua do sucha za vzniku 9,13 g hnědého oleje. Během stání olej ztuhne a pak se rozpustí ve 100 ml etanolu obsahujícího 10 ml vody. Roztok se okyselí na pH 3 10% kyselinou chlorovodíkovou a odpaří se do sucha. Na zbytek se působí 50 ml isopropylalkoholu a vzniklá směs se odpaří do sucha. Tento postup se opakuje. Získá se špinavě bílá pevná látka, která se rozpustí v metanolu. Roztok se odpaří za vakua na sirup, který se zředí 50 ml isopropylalkoholem a nechá stát. Krystaly, které vzniknou, se oddělí, promyjí isopropylalkoholem a vysuší. Získá se 7,8 g titulní sloučeniny o teplotě tání 217 až 221 °C za rozkladu.

Sloučenina popsaná v příkladu 6 se připraví podobným způsobem. Deaminací 4-amino-3,5-dibrom- α -[(terc.butylamino)metyl]benzylalkoholu se získá 3,5-dibrom- α -[(terc.butylamino)metyl]benzylalkohol o teplotě tání 249 až 251 °C (rozklad).

P ř í k l a d 15

4-amino-3,5-dichlor-beta-metoxifenetylamínhydrochlorid

Pod dusíkovou atmosférou se 11 g 4-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylchloridu přidá k 75 ml metanolu o teplotě 0 °C. Po 20 minutách se chladicí lázeň odstaví a reakční směs se míchá při teplotě místnosti. Po skončení reakce se směs za vakua odpaří do sucha. Zbytek se míchá v 75 ml vody a směs se zalkalizuje 6N roztokem hydroxidu sodného a extrahuje se metylenchloridem (3 x 50 ml). Organické fáze se vysuší síranem hořečnatým a odpaří do sucha. Získá se oranžový olej. Olej se rozpustí ve 150 ml absolutního etanolu a roztok se okyslí roztokem chlorovodíku v isopropylalkoholu na pH 2. Rostok se odpaří do sucha a zbytek se míchá v 75 ml etylecetátu. Po ochlazení se získá světle žlutá pevná látka, která se oddělí. Získá se 6,97 g titulní sloučeniny o teplotě tání 195 až 198 °C za rozkladu.

Podobně se za použití etylalkoholu, isopropylalkoholu, n-butylalkoholu a n-hexylalkoholu získá odpovídající beta-etoxy-, beta-isopropoxy-, n-butoxy a n-hexyloxyfenetylamínhydrochlorid.

P ř í k l a d 16

4-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylchlorid

Po dusíkovou atmosférou se 27,72 g 4-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholu přidá ke 200 ml tionylchloridu za míchání při 0 až 5 °C. Po přidání celého množství se reakční směs 3 hodiny míchá při teplotě místnosti. Pak se směs za vakua odpaří do sucha. Získá se 37,34 g žluté pevné látky, které se použije v tom stavu, v jakém je.

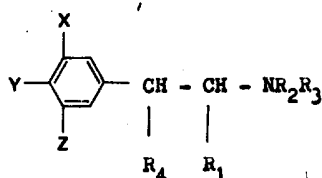
P ř í k l a d 17

Alternativní způsob přípravy 4-amino-3,5-dichlor-beta-metoxifenetylamínhydrochloridu

100 ml metanolu a 10 g 4-amino- α -[(terc.butylamino)metyl]-3,5-dichlorbenzylalkoholu se míchá v ledové lázni a do roztoku se uvádí plynný chlorovodík. Po nasycení roztoku se směs míchá jednu hodinu při teplotě místnosti a pak se odpaří do sucha. Pevná látka se pak míchá v etylecetátu. Titulní sloučenina se odfiltruje.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Prostředek vhodný pro povzbuzení rychlosti růstu a pro snížení ukládání tuku u teplokrevných zvířat obsahující účinnou složku a vhodné nosiče a/nebo ředidla této účinné složky, vyznačující se tím, že jako účinnou složku obsahuje sloučeninu zvolenou ze souboru zahrnujícího sloučeniny obecného vzorce



kde

- X představuje vodík nebo halogen, jako například fluor, chlor, jod nebo brom, s výhodou chlor nebo brom,
- Y představuje vodík, skupinu NH_2 nebo NHCOR_5 ,
- Z představuje vodík, halogen, jako například fluor, chlor, jod nebo brom, s výhodou chlor nebo brom, nebo hydroxyskupinu,
- R_1 představuje vodík nebo alkylskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku,
- R_2 představuje vodík, alkylskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku s přímým nebo rozvětveným řetězcem nebo alkenylskupinu obsahující 3 až 4 atomy uhlíku,
- R_3 představuje vodík, alkylskupinu obsahující 1 až 6 atomů uhlíku s přímým nebo rozvětveným řetězcem, cykloalkylskupinu obsahující 3 až 6 atomů uhlíku, metoxypropylskupinu, alkenylskupinu obsahující 3 až 4 atomy uhlíku, fenyl-, 2-hydroxyetyl-, alfa, alfa-dimetylfenetyl- nebo benzylskupinu a kromě toho
- R_2 a R_3 dohromady, společně s atomem dusíku, ke kterému jsou vázány, mohou představovat morfolinoskupinu nebo N'-alkylpiperazinoskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku,
- R_4 představuje vodík, hydroxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce OR_6 , kde R_6 má dále uvedený význam,
- R_5 představuje vodík nebo alkylskupinu obsahující 1 až 4 atomy uhlíku a
- R_6 představuje alkylskupinu obsahující 1 až 6 atomů uhlíku,

s tou podmínkou, že když R_3 představuje fenyl-, 2-hydroxyetyl-, alfa, alfa-dimetylfenetyl-, cykloalkyl- skupinu se 3 až 6 atomy uhlíku nebo metoxypropylskupinu, R_2 představuje vodík; když Z představuje hydroxyskupinu, znamenají X a Y atomy vodíku; a když Y představuje skupinu obecného vzorce NHCOR_5 , kde R_5 má shora uvedený význam, znamená alespoň jeden ze symbolů X a Z atom vodíku a dále s tou podmínkou, že alespoň jeden ze symbolů X, Y a Z představuje jiný substituent než vodík,

racemické směsi těchto sloučenin, jejich opticky aktivní izomery a jejich netoxické farmakologicky vhodné adiční soli s kyselinami.

2. Prostředek podle bodu 1, vyznačující se tím, že má formu přísady do krmiva, přičemž obsahuje 75 až 95 % hmotnostních účinné složky definované v bodě 1 a 5 až 25 % hmotnostních vhodného nosiče nebo ředidla.

3. Prostředek podle bodu 1, vyznačující se tím, že má formu injekčního preparátu.

4. Prostředek podle bodu 1, vyznačující se tím, že má formu implantátu.