



NORGE

[NO]

**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

[B] (II) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 145236

(51) Int. Cl.³ C 07 C 143/155, C 07 F 9/09

(21) Patentsøknad nr. 771584
(22) Inngitt 05.05.77
(23) Løpedag 05.05.77

(41) Alment tilgjengelig fra 08.11.77
(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 02.11.81

(30) Prioritet begjært 06.05.76, Ungarn, nr. CI-1662

(54) Oppfinnelsens benevnelse Analogifremgangsmåte ved fremstilling av terapeutisk aktive ω -aminocarboxylsyrederivater.

(71)(73) Søker/Patenthaver CHINOIN GYOGYSZER ES VEGYESZETI
TERMEKEK GYÁRA RT,
Tó u. 1-5,
Budapest IV,
Ungarn.

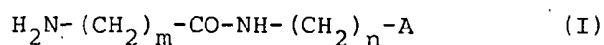
(72) Oppfinner LASZLO FEUER,
ÁRPÁD FURKA,
FERENC SEBESTYÉN,
ANIKÓ HORVÁTH,
JOLÁN HERCSEL,
alle: Budapest, Ungarn.

(74) Fullmektig Tandbergs Patentkontor A-S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner Norsk (NO) alment tilgjengelig søknad
nr. 751504
Chem. Abstr. vol. 81 (1974), no. 782372

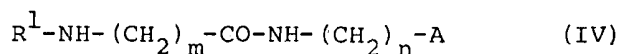
Foreliggende oppfinnelse angår en analogifremgangsmåte ved fremstilling av nye terapeutisk aktive ω -aminocarboxylsyre-derivater og deres salter.

De nye forbindelser som har den generelle formel:



hvor

A er $-\text{SO}_2\text{OH}$ eller $-\text{OPO}(\text{OH})_2$, og m og n er 2 eller 3, med det forbehold at når A er $-\text{SO}_2\text{OH}$, er n lik 3, fremstilles ved at en beskyttende gruppe R^1 avspaltes fra en forbindelse med den generelle formel:



hvor A, m og n er som ovenfor angitt, ved hydrolyse eller katalytisk hydrogenering.

Forbindelsene ifølge oppfinnelsen oppviser verdifulle farmakologiske virkninger eller er verdifulle utgangsmaterialer som kan anvendes for syntesen av biologisk, henholdsvis farmakologisk virksomme stoffer.

Av forbindelsene ifølge oppfinnelsen har særlig γ -aminobutyryltaurin og dets salter såvel som γ -aminobutyrylethanolaminfosfat, farmakologisk betydning. Disse forbindelser senker hos rotter allerede i meget små doser ($\mu\text{g/kg}$ legemsvekt) blodsukkerspeilet, øker vitamin A-speil i serumet og øker i lungevevet hos hønsefosteret mengden av innebyggede merkede sulfationer.

Det er den felles strukturelle egenskap hos forbindelsene med formelen I at en eventuelt på aminogruppen substituert β - eller γ -aminocarboxylsyre er bundet over sin carboxylgruppe ved en syreamidbinding til et primært alkylamin, hvis alkylsidekjede i β - eller γ -stilling har en gruppe med sterkt sur karakter.

145236

2

For påvisning av den farmakologiske virkning av forbindelsene med den generelle formel I ble følgende forsøk foretatt.

Påvirkningen av blodsukkerspeilet av γ -aminobutyryl-cholaminfosfat

Kontroll	106 mg%
γ -aminobutyrylcholaminfosfat	95 mg%
γ -aminobutyryltaurin	92 mg%

Signifikansen går i begge tilfelle ved P under 0,05. Til dette forsøk ble der anvendt 20 rotter pr. gruppe, som før forsøket ikke ble føret i 18 timer. Dosen utgjorde 1 μ g/kg kroppsvekt og ble administrert peroralt i 4 dager i form av en oppløsning.

Den økende virkning av γ -aminobutyryl-cholaminfosfat på vitamin A-speilet

Dose	0	5	1	0,3	0,1	0,05	0,01	0,005
(μ g/kg)								
virking ⁺								
A-vitamin								
(ug%)	9,0	11,5	12,5	13,5	16,6	15,2	14,8	14,8

⁺) Signifikans: $P < 0,01$

Til forsøket ble der anvendt 20 Wistar-hanrotter av vekt 200 g pr. gruppe. Iakttagelsestiden var 6 dager.

Virkingen av γ -aminobutyryl-cholaminfosfater på siliciumspeilet i blodet

		Silicium (mg/g blod)					
		0 h	5.dag	7.dag	13.dag	20.dag	40.dag
Kontroll		0,100	0,098	0,120	0,122	0,130	0,153
		$\pm 0,005$	$\pm 0,011$	$\pm 0,017$	$\pm 0,016$	$\pm 0,011$	$\pm 0,016$
Gruppe I		0,090	0,156	0,154	0,184	0,305	0,336
	5 μ g/dag	$\pm 0,105$	$\pm 0,010$	$\pm 0,006$	$\pm 0,005^x$	$\pm 0,010^{xx}$	$\pm 0,011^{xx}$
Gruppe II		0,105	0,174	0,170	0,200	0,368	0,359
	10 μ g/dag	$\pm 0,005$	$\pm 0,004$	$\pm 0,004$	$\pm 0,011^x$	$\pm 0,115^{xx}$	$\pm 0,013^{xx}$

^xSignifikans $P < 0,01$

^{xx}Signifikans $P < 0,001$

Resultatene er fra den 13. dag signifikant med P under 0,01, og fra den 20. dag med P under 0,001. Disse forsøk ble utført på kaninunger som veiet 2,5 - 3 kg. Virkestoffet ble administrert oralt i den i tabellen angitte mengde. Siliciumet ble bestemt ved metoden ifølge Gaubatz (Klin. Wochenschrift 14, 1753 [1935]). Til dette ble der tatt blodprøver på 5 ml fra ørevenene hos dyrene.

Den forenede virkning av γ -aminobutyrylcholaminfosfat og vitamin A på den granulomutløsende virkning av implantert vatt

		Dose		Virkestoff (oral) $\mu\text{g}/\text{dag}$	Vekt av det tørrede granulom, mg
		Vitamin A (lokal) mg	(lokal) μg		
I.	Kontroll	-	-	-	$50 \pm 1,3$
II.	Kontroll +oppløsnings- middel	-	-	-	$51 \pm 3,0$
III.	behandlet	2	-	-	$62 \pm 22,1$
IV.	behandlet	2	0,1	-	$63 \pm 2,2$
V.	behandlet	-	-	0,1	$75 \pm 2,4$
VI.	behandlet	2	-	0,1	$92 \pm 4,0$

Det anvendte Vitamin A stammer fra Hoffmann la Roche.

Forskjellene er signifikante på følgende måte: Mellom gruppe II og III P under 0,05, mellom gruppe II og V P under 0,001, mellom gruppe V og gruppe VI P under 0,01.

Dannelsen av granulomaet ble undersøkt på Sprague-Dawley-rotter av vekt 110 - 120 g ved metoden ifølge Lee. et al. (Pharm. Sci. 62, 895, [1973]). De dorsolateralis subcutan implanterte tamponger ble fjernet etter 10 dager og tørret ved 65°C til konstantvekt.

145236

4

Farmakologiske data for γ -amino-butyryl-aurin

a) Virkning av blodsukkerspeilet

Forsøksmetoden var som ovenfor angitt.

Kontroll: 105 mg%.

Forsøksforbindelse: 91 mg%.

b) Virkning på serum-vitamin A-speilet

Forsøket ble utført som beskrevet ovenfor med følgende resultater:

<u>Dose</u> <u>/ug/200 g legemsvekt</u>	<u>Vitamin A speil</u> <u>/ug%</u>
0	9,0
5	11,5 ⁺
1	11,0 ⁺
0,3	12,0 ⁺
0,1	15,5 ⁺
0,05	14,4 ⁺
0,01	14,5 ⁺
0,005	14,5 ⁺

⁺Signifikans: P 0,01

c) Virkning på siliciumspeilet i blodet

Forsøket og bedømmelsen ble utført som beskrevet ovenfor.

De følgende resultater ble erholdt:

Dose	Siliciumspeil, mg/g blod					
	0 timer	5. dag	7. dag	13. dag	20. dag	40. dag
0 (kontroll)	0,110 $\pm 0,006$	0,100 $\pm 0,010$	0,130 $\pm 0,015$	0,134 $\pm 0,012$	0,150 $\pm 0,010$	0,160 $\pm 0,021$
5 μ g/dag	0,100 $\pm 0,001$	0,140 $\pm 0,005$	0,152 $\pm 0,003$	0,180 $\pm 0,002^+$	0,310 $\pm 0,008^{++}$	0,310 $\pm 0,010^{++}$
10 μ g/dag	0,100 $\pm 0,004$	0,164 $\pm 0,004$	0,156 $\pm 0,004$	0,195 $\pm 0,010^+$	0,354 $\pm 0,110$	0,350 $\pm 0,013$

+ Signifikans: $P < 0,01$

++ Signifikans: $P < 0,001$

- d) Den forenede virkning av γ -amino-butyryl-aurin og vitamin A på den granuloma-utløsende virkning av implantert vatt

Fors ksmetoden og dosene var identiske med de ovenfor angitte.

Resultatene var som følger:

I	51 $\pm$ 3,1
II	53 $\pm$ 5,6
III	61 $\pm$ 6,1
IV	64 $\pm$ 6,2
V	74 $\pm$ 7,0 og
VI	91 $\pm$ 15,0

145236

6

Eksempel 1

Trinn A

3,94 g (11 mmol) N-carbobenzoxo- γ -aminosmørsyre-p-nitro-fenylester oppløses i 60 ml absolutt pyridin. Oppløsningen avkjøles til 0°C. Uten ytterligere avkjøling tildryppes under omrøring 1,41 g (10 mmol) ethanolamin-fosfat oppløst i 20 ml vann. Derpå tilsettes oppløsningen 2,8 ml (20 mmol) triethylamin. Reaksjonsblandingen hensettes ved værelsetemperatur i 72 timer og inndampes så i vakuum ved 35°C. Det gjenværende oljeaktige produkt fortynnes med 10 ml vann og gjøres surt med konsentrert saltsyre. Blandingen ekstraheres kontinuerlig i 8 timer med ether. Vannfasen inndampes i vakuum. Det gjenværende oljeaktige produkt oppløses i 20 ml destillert vann og oppløsningen påføres på en med "Dowex 50 x 2" (H⁺-formen) fylt kromatografikolonne av størrelse 36 x 2,2 cm). Der elueres med destillert vann. 250 ml eluat oppfanges og inndampes i vakuum ved 35°C. Residuet tørres i eksikator over fosforpentoxyd. Det faste, hvite, hygroskopiske materiale omkrystalliseres fra en blanding av vann og aceton i volumforholdet 1:9. Man får 3,13 g (87 %) N-carbobenzoxo- γ -aminobutyryl-ethanolaminfosfat, som smelter ved 169 - 171°C.

Det i kaliumbromid opptatte IR-spektrum viser følgende karakteristiske absorpsjonsbånd:

=NH (Amid) 3323, $\bar{\text{P}}\text{-OH}$ 3500 - 2000, -O-CO-NH- (carbobenzoxo) 1684, =CO (Amid) 1642, =NH (Amid) 1548, $\bar{\text{P}}\text{=O}$ (H-binding) 1080, $\text{-}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{-O-P=O}$ (Fosforsyreester) 1283, $\bar{\text{P}}\text{-O-alkyl}$ 1050, 950 cm⁻¹.

Trinn B

3,13 g N-carbobenzoxo- γ -aminobutyryl-ethanolaminfosfat tilsettes 10 ml iseddik og 15 ml av en iseddiksur hydrogenbromidoppløsning som inneholder 3,3 mol/l hydrogenbromid. Blandingen hensettes ved værelsetemperatur i 2 timer og inndampes så i vakuum ved 35°C. Det oljeaktige residuum tritureres flere ganger med ether, og den etheriske oppløsning fradestilleres. Produktet tørres i eksikator over fast kaliumhydroxyd. Det oljeaktige produkt oppløses i 2 ml vann og utfelles med 20 ml aceton. Råproduktet omkrystalliseres fra en blanding av vann og

methanol i volumforholdet 1:9. Man får 1,83 g (81%) γ -amino-butyryl-ethanolaminfosfat som smelter ved 207°C.

Det i kaliumbromid opptatte IR-spektrum viser følgende karakteristiske absorpsjonsbånd:

=NH (Amid) 3295, $-\text{NH}_3^+ \text{OH}^-$ 3200 - 2000, =CO (Amid) 1642, =NH (Amid) 1558, $\text{P}=\text{O}$ (i H-binding) 1145, $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ (asymmetrisk) 1045 (bredt), $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ (symmetrisk) 957 cm^{-1} .

Analyse for $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_5\text{P}$ (M = 226,182)

Beregnet: C 31,86, H 6,68, N 12,39, P 13,70 %

Funnet : C 31,50, H 6,97, N 12,04, P 13,40 %

Eksempel 2

Trinn A

1,9 g (5,5 mmol) N-carbobenzoxym- β -alanin-p-nitrofenylester omsettes på den i eksempel 1 beskrevne måte med 696 mg (5 mmol) homotaurin. Man får 1,38 g (80%) N-carbobenzoxym- β -alanyl-homotaurin.

Trinn B

1,38 g N-carbobenzoxym- β -alanyl-homotaurin befries for beskyttelsesgruppen ved å tilsettes 10 ml iseddik og 15 ml av en iseddiksur hydrogenbromidoppløsning som inneholder 3,3 mol/l hydrogenbromid. Blandingen henses ved værelsetemperatur i 2 timer og inndampes så i vakuum ved 35°C. Det oljeaktige residuum tritureres flere ganger med ether, og den etheriske oppløsning fradekanteres. Produktet tørres i eksikator over fast kaliumhydroxyd. Det oljeaktige produkt oppløses i 2 ml vann og utfelles med 20 ml aceton. Råproduktet omkrystalliseres fra vann og aceton i et volumforhold på 1:9 eller fra 80%-ig ethanol. Man får 0,75 g (71%) β -alanyl-homotaurin som smelter ved 205 - 207°C.

Det i kaliumbromid opptatte IR-spektrum viser følgende karakteristiske absorpsjonsbånd:

=NH (Amid) 3338, 3305, $-\text{NH}_3^+$ 3200 - 2600, =CO (Amid) 1681, 1669, $-\text{NH}_3^+$ 1683, =NH (Amid) 1538, 1545, $-\text{SO}_3^-$ 1190, 1043, $-\text{SO}_3^-$ 530 cm^{-1} .

145236

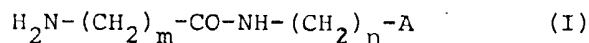
8

Eksempel 3

1,38 g N-carbobenzoxy- β -alanyl-homotaurin oppløses i 10 ml vann og hydrogeneres i nærvær av 100 mg 10%-ig palladium-aktivkull i 2 timer. Oppløsningen filtreres og inndampes så i vakuum ved 35°C. Råproduktet omkrystalliseres fra en blanding av vann og aceton i et volumforhold på 1:10. Man får 0,808 g (77%) β -alanyl-homotaurin.

P a t e n t k r a v

Analogifremgangsmåte ved fremstilling av terapeutisk aktive ω -aminocarboxylsyrederivater med den generelle formel:



hvor

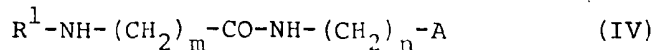
A er $-\text{SO}_2\text{OH}$ eller $-\text{OPO}-(\text{OH})_2$,

m og n er 2 eller 3,

med det forbehold at når A er $-\text{SO}_2\text{OH}$, er n lik 3,

og salter av disse forbindelser,

k a r a k t e r i s e r t ved at en beskyttende gruppe R^1 avspaltes fra en forbindelse med den generelle formel:



hvor A, m og n er som ovenfor angitt, ved hydrolyse eller katalytisk hydrogenering.