



Republik
Österreich
Patentamt

(11) Nummer: **AT 393 508 B**

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 2012/83

(51) Int.Cl.⁵ : **C07K 5/06**
//A61K 37/02

(22) Anmeldetag: 1. 6.1983

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 4.1991

(45) Ausgabetag: 11.11.1991

(30) Priorität:

7. 6.1982 US 385745 beansprucht.
31. 1.1983 US 462727 beansprucht.

(73) Patentinhaber:

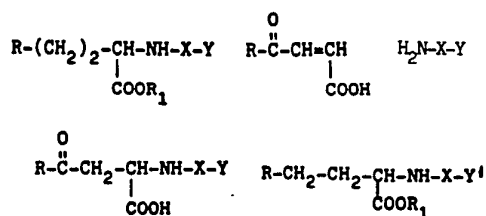
MERCK & CO., INC.
07065 RAHWAY (US).

(56) Entgegenhaltungen:

EP-A1-0012401

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON CARBOXYALKYLDIPEPTIDEN

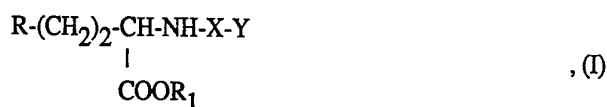
(57) Beschrieben wird ein einfaches Verfahren zur Herstellung von Carboxyalkyldipeptiden Formel (I) und deren pharmazeutisch annehmbaren Salzen, wonach man eine Acrylsäureverbindung Formel (II) mit einem Dipeptid Formel (III) zu einem Dicarboxydipeptid Formel (IV) umsetzt, dieses Dicarboxydipeptid in einem sauren Medium in einem Alkohollösungsmittel unter gleichzeitiger Veresterung zu einem Dicarboxyldipeptid Formel (V) hydriert, das erhaltene Diester-Diastereomergemisch selektiv zum Carboxyalkyldipeptid (I) hydrolysiert und gegebenenfalls die erhaltene Verbindung (I) in das Maleatsalz überführt.



AT 393 508 B

Die Herstellung und die pharmazeutische Verwendung neuer Carboxyalkyldipeptide sowie ihrer Derivate und Analoga sind in der EP-A-0 012 401 beschrieben. Die Verbindungen sind als Umwandlungsenzyminhibitoren und als antihypertensive Mittel nützlich.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Carboxyalkyldipeptiden der Formel



worin R Phenyl bedeutet,

R_1 Niedrigalkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen ist;
 HN-X Alanyl, Glycyl, Isoleucyl, Leucyl, Lysyl, Phenylalanyl oder Valyl darstellt; und
 Y Alanyl, Glycyl, Isoleucyl, Leucyl, Lysyl, Phenylalanyl, Prolyl oder Valyl symbolisiert;
 und pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon.

Bevorzugt sind Verbindungen der Formel (I), worin R_1 Ethyl ist, und insbesondere solche, bei denen R Phenyl ist, NH-X Alanyl symbolisiert und Y Prolyl darstellt.

Die bevorzugten Verbindungen der Formel I umfassen auch die pharmazeutisch annehmbaren Salze davon.

Die Niedrigalkylgruppen R_1 umfassen gerade, verzweigte und ungesättigte Kettenkohlenwasserstoffreste C_1 - C_4 , wie z. B. Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, tert. Butyl.

Die Herstellung der Carboxyalkyldipeptide der Formel (I) erfolgt erfindungsgemäß dadurch, daß man

a) eine Acrylsäureverbindung der Formel



worin R die oben angegebene Bedeutung hat, mit einem Dipeptid der Formel

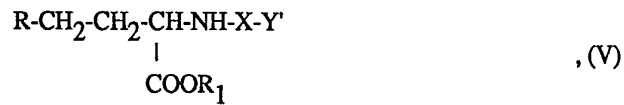


worin X und Y die oben angegebene Bedeutung haben, unter Bildung eines Dicarboxydipeptids der Formel



worin R, X und Y die oben angegebene Bedeutung haben, umsetzt,

b) dieses Dicarboxydipeptid der Formel (IV) in einem sauren Medium in einem Alkohollösungsmittel (R_1OH) unter gleichzeitiger Veresterung zu einem Dicarboxydipeptid der Formel



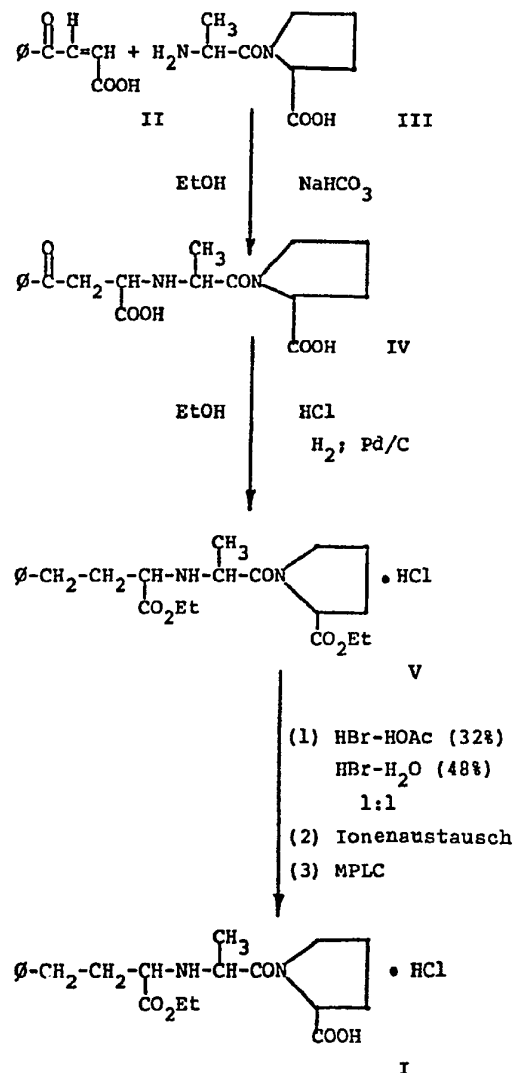
worin R , R_1 und X die oben angegebenen Bedeutung haben und Y' eine dem Aminosäurerest Y , worin die Carboxylgruppe mit dem Alkohol R_1OH verestert ist, entsprechende Bedeutung hat, hydriert,

c) das so erhaltene Diester-Diastereomergemisch selektiv zur Verbindung der Formel (I) hydrolysiert und

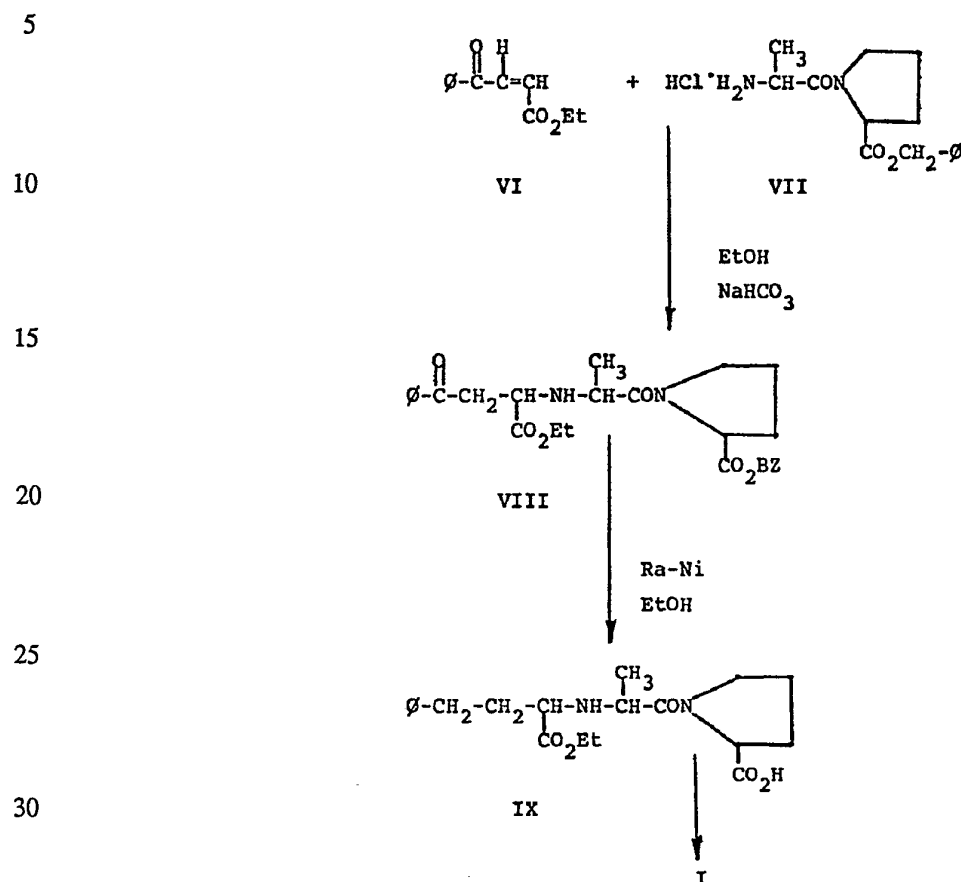
d) gegebenenfalls die erhaltene Verbindung der Formel (I) mit Maleinsäure behandelt und anschließend die Diastereomeren unter Gewinnung des S,S,S-Maleatsalzes der Verbindung der Formel (I) trennt.

Das Verfahren der Erfindung wird durch die folgenden Reaktionsschemata veranschaulicht, worin bevorzugte Reaktionsteilnehmer angegeben sind, um das Verfahren der Erfindung deutlicher aufzuzeigen.

Reaktionsschema I



Reaktionsschema II



Wie im Reaktionsschema I gezeigt, wird 3-Benzoylacrylsäure (II) mit L-Alanin-L-prolin-hemihydrat (III) in Gegenwart von Äthanol und Natriumbicarbonat umgesetzt, um Dicarboxydipeptid IV zu erhalten. Dipeptid IV wird dann mit Ethanol und wasserfreiem Chlorwasserstoff behandelt, und das entstehende Gemisch der Hydrierung in Gegenwart von Pd/C-Katalysator unterworfen, um Diester V als ein Gemisch der Diastereomeren zu erzeugen. Dieses diastereomere Gemisch V wird dann mit Bromwasserstoff-Essigsäure und wässriger Bromwasserstoffsäure vereinigt, worauf Ionenaustausch-Chromatographie und Mitteldruck-Flüssigchromatographie (MPLC) erfolgen, wobei Monoester I als ein Gemisch der Diastereomeren erhalten wird.

Durch weitere Behandlung von I mit Acetonitril und Maleinsäure erhält man ein rohes Maleatsalz, das dann umkristallisiert werden kann und N-(1-(S)-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl)-L-alanin-L-prolinmaleatsalz liefert.

Im Reaktionsschema II wird das Ethyl-β-benzoylacrylat VI [hergestellt nach dem Verfahren von W. Koga, Nippon Kagaku Zasshi, 76, 1053-6 (1955)] mit L-Alanin-L-prolinbenzylesterhydrochlorid VII in Gegenwart von Ethanol und Natriumbicarbonat umgesetzt, wobei geschützter Dipeptidester VIII erhalten wird. Dieser Dipeptidester VIII wird dann mit Ethanol und Raney-Nickel-Katalysator [R. H. Mitchell und Mitarbeiter, Tetrahedron Lett., 21, 2637 (1980)] behandelt und liefert Dipeptidester IX. Die Behandlung von IX mit Maleinsäure liefert I als das S,S,S-Stereoisomermaleatsalz.

Somit stellt das Verfahren der Erfindung ein einfaches, wirksames und wirtschaftliches Mittel zur Synthese von Verbindungen der Formel I dar, da die Ausgangsmaterialien und Grundreaktionsteilnehmer entweder bequem hergestellt werden können oder im Handel verfügbar sind. Bei einer bevorzugten Ausführungsform können die Diester V oder VIII für die Verladung und den Transport hergestellt werden und dann entweder in das Monoestersalz oder eine Verbindung der Formel I umgewandelt werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird deutlicher und besser verständlich, wenn es in Verbindung mit den folgenden Beispielen in Betracht gezogen wird, welche der weiteren Erläuterung der Erfindung dienen sollen, diese aber nicht beschränken.

Beispiel 1Ethyl-N-(1-carboethoxy-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinat

Zu einer Lösung von L-Alanyl-L-prolin-hemihydrat (1,00 g; 5,12 mMol) und 3-Benzoylacrylsäure (1,04 g; 5,91 mMol) in absolutem Ethanol (15 ml) wurde Natriumbicarbonat (0,497 g; 5,91 mMol) zugegeben und die Mischung wurde 48 Stunden gerührt. Nach Zugabe von Ethanol (15 ml) wurde die Mischung gekühlt (Eisbad) und wasserfreier Chlorwasserstoff wurde in die Lösung eingeleitet, bis die Lösung gesättigt war. Es wurde Äthanol (5 ml) zugegeben und die Mischung wurde der Hydrierung in Gegenwart von 10 % Palladium an Kohle (0,10 g) während 48 Stunden bei 2,76 bar unterworfen. Nach Entfernen des Katalysators durch Filtration und Eindampfen wurde der ölige Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen und wässriges Ammoniak wurde eingeleitet, bis die Lösung basisch war. Der Rückstand wurde nach Eindampfen mit EtOAc aufgeschlämmt und filtriert. Nach Eindampfen wurde der Rückstand der Säulenchromatographie an Silicagel mit EtOAc als Eluierungsmittel unterworfen, wobei der Diester (1,1 g; 2,8 mMol; 54 %) als Gemisch (1 : 1) der Diastereomeren erhalten wurde. Dünnschichtchromatographie (Silicagel; EtAc) $R_f = 0,50, 0,55$.

KMR (CDCl_3): 1,1-1,3 (9H, m); 1,8-2,2 (6H, m); 2,6-2,8 (2H, m); 2,9-3,1 (1H, breit); 3,1-3,3 (1H, m); 3,4-3,6 (3H, m); 4,1-4,3 (4H, m); 4,4-4,6 (1H, m); 7,1-7,3 (5H, m).

IR (CHCl_3): 2960, 1730, 1640, 1430 cm^{-1}

MS: m/e 404 (M^+).

Beispiel 2N-(1-Carboethoxy-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolin oder dessen Maleatsalz

Der Diester des Beispiels 1 (0,508 g; 1,26 mMol) wurde mit mit Bromwasserstoff-gesättigter (32 %) Essigsäure (10 ml) und konzentrierter, wässriger Bromwasserstoffsäure (2,5 ml) vereinigt, und die entstehende Lösung wurde 48 Stunden kräftig gerührt. Die Lösung wurde eingeeengt und dann mehrmals aus H_2O erneut eingeeengt. Der ölige Rückstand wurde auf eine Säule aus Dowex 50W-X4 (Sulfonsäuregruppen enthaltendes kationisches Ionenaustauscherharz auf Polystyrolbasis) (10 g) aufgebracht. Nach einer anfänglichen Wäsche des Harzes mit H_2O wurde das Produkt mit H_2O :Pyridin 25:1 eluiert. Nach Einengen blieb ein farbloses Öl zurück, dessen Dünnschichtchromatographie (Silicagel; 100:20:3:0,5 CHCl_3 : CH_3OH : H_2O :HOAc) zeigte, daß es aus Monoester, als ein Gemisch (1:1) der Diastereomeren, $R_f = 0,65, 0,70$, begleitet von einer kleinen Menge Disäure, $R_f = 0,2$, bestand. Mitteldruck-Flüssigchromatographie an Silicagel (E. Merck Lobar-Säule, Größe A) in 100:20:3:0,5 CHCl_3 : CH_3OH : H_2O :HOAc lieferte Monoester (0,382 g; 1,02 mMol; 81 %) als ein Gemisch (1 : 1) der Diastereomeren.

KMR (D_2O): 1,30, 1,34 (3H, 2 x t, $J = 7$); 1,53, 1,58 (3H, 2 x d, $J = 7$); 1,8-2,0 (2H, m); 2,1-2,4 (4H, m); 2,7-3,0 (2H, m); 3,3-3,7 (2H, m); 3,8-4,2 (2H, m); 4,2-4,4 (3H, m); 7,3-7,5 (5H, m).

IR (CHCl_3): 3500-2500, 2960, 1720, 1640, 1430 cm^{-1} .

MS (FAB): m/e 377 ($\text{M}^+ + 1$).

Die Trennung der Diastereomeren wurde durch Umkehrphasen-HPLC bewirkt. Alternativ kann die Trennung durch Behandlung einer Lösung des 1 : 1-Gemisches der Isomeren in Acetonitrillösung mit einer Acetonitrillösung, welche ein halbes Moläquivalent Maleinsäure enthält, bewirkt werden. Nach Rühren während 1 Stunde bei Zimmertemperatur wurde der Feststoff abgetrennt, mit Acetonitril gespült und an der Luft getrocknet, wobei Maleatsalz erhalten wurde, welches nach HPLC etwa 96 % rein war. Das rohe Maleatsalz wurde aus Acetonitril umkristallisiert und lieferte N-(1-(S)-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolin-maleatsalz, F. 148 - 150 °C, nach HPLC etwa 99 % rein. $[\alpha]_D^{25} = -42^\circ$ (CH_3OH).

Beispiel 3N-(1-Carboxy-3-oxo-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolin

Zu einer Lösung von L-Alanyl-L-prolin-hydrochlorid (2,26 g; 10,2 mMol) und 3-Benzoylacrylsäure (1,97 g; 11,2 mMol) in Methanol (50 ml) wurde Natriumbicarbonat (1,71 g; 20,3 mMol) zugegeben und die Mischung wurde 48 Stunden gerührt. Nach Filtration und Eindampfen wurde der Rückstand an Dowex 50W-XY unter Verwendung von 10:1 H_2O : CH_3OH und dann 50:1 H_2O :Pyridin als Eluierungsmittel gereinigt. Durch Gefriertrocknen der H_2O :Pyridinfraktionen wurde das Produkt als ein Gemisch (1 : 1) der Diastereomeren erhalten (2,68 g; 7,40 mMol; 73 %).

MS: m/e 461 (Bis(trimethylsilyl) M⁺ - CO₂TMS).

TLC (Silicagel; 3:1:1:1 EtOAc, BuOH, HOAc, H₂O) R_f = 0,35.

KMR (D₂O): 1,08 (gering), 1,18 (gering), 1,26, 1,34 (3H, 4 x d, J = 7) (2 Rotomeren); 1,5-2,2 (4H, m); 2,1-3,8 (4H, m); 3,9-4,3 (3H, m); 7,3-7,8 (5H, m).

Das Disäureprodukt des Beispiels 3 kann angereichert an dem Diastereomer der (S,S,S)-Konfiguration erhalten werden, indem die Umsetzung in einem Zweiphasenreaktionsmedium ausgeführt wird, das aus Wasser und zum Beispiel Ether oder Dichlormethan oder anderem, mit Wasser nicht-mischbarem Lösungsmittel, besteht. Demgemäß kann eine Lösung eines Moläquivalents 3-Benzoylacrylsäure in dem organischen Lösungsmittel mit einer wässrigen Lösung von L-Alanyl-L-prolin, die ein Moläquivalent einer anorganischen Base, wie Kaliumbicarbonat, enthält, vereinigt werden. Die Reaktion kann unter mäßigem Rühren in Gegenwart eines quaternären Ammoniumsalzes, wie Hexadecyltrimethylammoniumbromid oder Triton B, ablaufen. Besonders vorteilhaft für die Erzielung optimaler Ausbeuten des angegebenen Diastereomers sind chirale Ammoniumsalze, wie N,N-Dimethyl-ephedriniumbromid oder N-Dodecyl-N-methylephedriniumbromid. Nützlich sind auch Kronenether, wie 18-Krone-6 und Dibenzo-18-Krone-6.

Zur Erhöhung des Anteiles des oben erwähnten Diastereomers ist auch ein Verfahren von Nutzen, in welchem eine Lösung der 3-Benzoylacrylsäure in einem organischen Lösungsmittel, wie z. B. Benzol, Dichlormethan oder Acetonitril, dem L-Alanyl-L-prolin-kaliumsalz zugesetzt werden kann, wie es durch Behandlung des Dipeptids mit einem Moläquivalent wässrigen Kaliumhydroxids und anschließendes Gefriertrocknen hergestellt wird. Die Umsetzung kann unter Rückfluß in Gegenwart eines quaternären Ammoniumsalzes, wie Dodecyltrimethylammoniumbromid oder insbesondere N-Dodecyl-N-methylephedriniumbromid oder einen Kronenether, zum Beispiel 18-Krone-6, ausgeführt werden.

In jedem Falle kann das Produkt durch Einengen zur Trockne und Reinigung wie oben, an saurem Dowex 50W-X4-Harz, isoliert werden. Die Analyse der diastereomeren Zusammensetzung kann durch Umkehrphasen-HPLC ausgeführt werden.

Alternativ kann der Rückstand, nach Einengung, in absolutem Äthanol, das mit wasserfreiem Chlorwasserstoff gesättigt ist, aufgenommen und, wie in Beispiel 1 beschrieben, unter Gewinnung von Ethyl-N-(1-carboethoxy-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinat weiter behandelt werden.

Beispiel 4

Alternatives Verfahren zur Herstellung von N-(1-Carboethoxy-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolin

L-Alanyl-L-prolinbenzylester-hydrochlorid (3,12 g; 10 mMol) kann mit Ethyl-β-benzoylacrylat (2,04 g; 10 mMol), Natriumbicarbonat (0,84 g; 10 mMol) und absolutem Ethanol (20 ml) vereinigt und die Mischung kann dann 24 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt werden. Die Mischung kann dann filtriert werden, und dann können Wasser (2 ml) und W-7-Raney-Nickel-Katalysator (R. H. Mitchell und Mitarbeiter, Tetrahedron Lett., 21, 2637 (1980)) zugesetzt und die Mischung bei 20,7 bar während 24 Stunden hydriert werden. Nach Filtration zur Entfernung des Katalysators und Einengen zur Trockne kann der Rückstand in Acetonitril aufgenommen und filtriert werden. Zu dem Filtrat kann eine Acetonitrillösung gegeben werden, welche ein halbes Moläquivalent Maleinsäure enthält, und nach Rühren während 1 Stunde kann der Feststoff abgetrennt, mit Acetonitril gespült und getrocknet werden, wobei das Maleatsalz erhalten wird.

N-(1-Carboethoxy-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolin, hergestellt wie im obigen Beispiel 3 beschrieben, kann ebenfalls mit Raney-Nickel in Ethanol-Wasser, wie in Beispiel 4 oben beschrieben, behandelt werden, um N-(1-Carboethoxy-3-phenyl-propyl)-L-alanyl-L-prolin in Form des Maleatsalzes zu erhalten.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung von Carboxyalkyldipeptiden der Formel



worin R Phenyl bedeutet,

R₁ Niedrigalkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen ist;

HN-X Alanyl, Glycyl, Isoleucyl, Leucyl, Lysyl, Phenylalanyl oder Valyl darstellt; und

Y Alanyl, Glycyl, Isoleucyl, Leucyl, Lysyl, Phenylalanyl, Prolyl oder Valyl symbolisiert;

und pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon,

dadurch gekennzeichnet, daß man

a) eine Acrylsäureverbindung der Formel



worin R die oben angegebene Bedeutung hat, mit einem Dipeptid der Formel

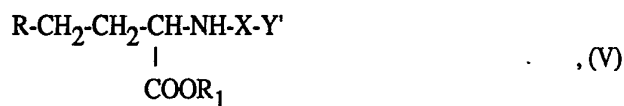


worin X und Y die oben angegebene Bedeutung haben, unter Bildung eines Dicarboxydipeptids der Formel



worin R, X und Y die oben angegebene Bedeutung haben, umsetzt,

b) dieses Dicarboxydipeptid der Formel (IV) in einem sauren Medium in einem Alkohollösungsmittel (R₁OH) unter gleichzeitiger Veresterung zu einem Dicarboxyldipeptid der Formel



d) gegebenenfalls die erhaltene Verbindung der Formel (I) mit Maleinsäure behandelt und anschließend die Diastereomeren unter Gewinnung des S,S,S-Maleatsalzes der Verbindung der Formel (I) trennt.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man als Dipeptid der Formel (III) ein solches einsetzt, worin HN-X für L-Alanyl steht und Y L-Prolyl bedeutet.

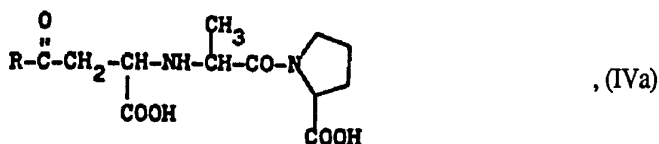
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die selektive Hydrolyse des Diester-Diastereomerengemisches der Formel (V) durch Behandlung des genannten Diester-Diastereomerengemisches mit Bromwasserstoff-Essigsäure und wäßrigem Bromwasserstoff bewirkt.

$$\text{R}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\underset{\text{COOR}_1}{\text{CH}}-\overset{\text{CH}_3}{\text{NH}}-\text{CH}-\text{CO}-\text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \\ \diagdown \text{CH}_2 \\ \text{COOH} \end{array} \quad (1a)$$
$$\text{R}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\underset{\text{COOR}_1}{\underset{|}{\text{CH}}}-\underset{\text{CH}_3}{\underset{|}{\text{NH}}}-\text{CH}-\text{CO}-\text{N}-\underset{\text{COOR}_1}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{R}' \quad (\text{Va})$$

- 8 -

7. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (Ia), worin R und R₁ die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, **dadurch gekennzeichnet**, daß man

a) ein Dicarboxydipeptid der Formel



worin R die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung hat, in einem sauren Medium in einem Alkohollösungsmittel (R₁OH) unter gleichzeitiger Veresterung zu einem Dicarboxydipeptid der Formel (Va), worin R und R₁ die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, hydriert, und

b) das so erhaltene Dicarboxydipeptid unter Bildung der Verbindung der Formel (Ia) selektiv hydrolysiert.

8. Abänderung des Verfahrens nach Anspruch 1, zur Herstellung von Carboxyalkyldipeptiden der Formel (I), worin R, R₁, HN-X und Y die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, und von pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon, **dadurch gekennzeichnet**, daß man

a) eine Acrylsäureverbindung der Formel



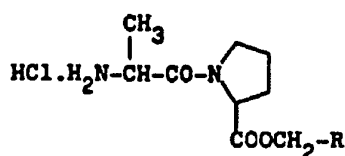
worin R und R₁ die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, mit einem Dipeptidbenzylesterhydrochlorid unter Bildung eines geschützten Dipeptidesters umsetzt;

b) den geschützten Dipeptidester mit Wasserstoff unter Bildung einer Verbindung der Formel (I) katalytisch hydriert; und

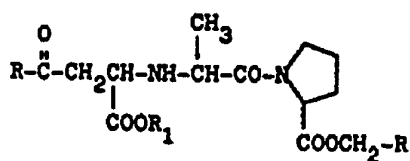
c) gegebenenfalls die Verbindung (I) mit Maleinsäure behandelt und anschließend die Diastereomeren unter Gewinnung des S,S,S-Stereoisomers des Maleatsalzes der Verbindung trennt.

9. Verfahren nach Anspruch 8, zur Herstellung einer Verbindung der Formel (Ia), worin R und R₁ die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, **dadurch gekennzeichnet**, daß man

a) eine Acrylsäureverbindung der Formel (IIa), worin R und R₁ die im Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, mit einem Dipeptidbenzylesterhydrochlorid der Formel



5



10

15

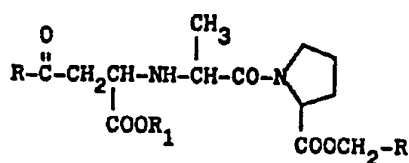
20

10. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (Ia), worin R und R₁ die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, **dadurch gekennzeichnet, daß man**

25

a) einen geschützten Dipeptidester der Formel

30



35

40

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als den Rest R_1 enthaltende Verbindungen solche einsetzt, worin R_1 Ethyl bedeutet.

45

50

55