



NORGE

(12) **UTLEGNINGSSKRIFT**

(19) NO

(11) 172894

(13) B

(51) Int Cl⁵ C 07 K 1/02, 1/12, 5/06

Styret for det industrielle rettsvern

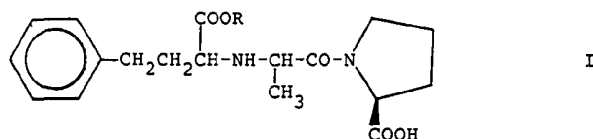
(21) Søknadsnr	892813	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	07.07.89	(85) Videreføringsdag	
(24) Løpedag	07.07.89	(30) Prioritet	13.07.88, YU, 1355/88
(41) Alm. tilgj.	15.01.90		
(44) Utlegningsdato	14.06.93		
(71) Patent søker	KRKA tovarna zdravil n.sol.o, Cesta herojev 45, YU-68000 Novo mesto, YU		
(72) Oppfinner	Marjo Merslavic, Novo mesto, YU Pavel Zupet, Novo mesto, YU Vesna Flego, Zagreb, YU Miha Japelj, Novo mesto, YU Branko Stanovnik, Vrhnikā, YU Janja Cimski, Novo mesto, YU Johan H. Gørbitz, Bryn & Aarflot AS, Oslo		
(74) Fullmektig			

(54) **Benevnelse** Fremgangsmåte til fremstilling av L-alanyl-L-prolinderivater

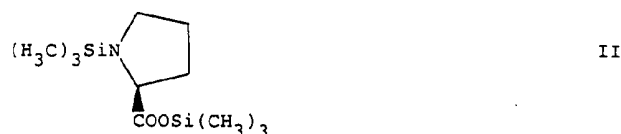
(56) **Anførte publikasjoner** Ingen

(57) **Sammendrag**

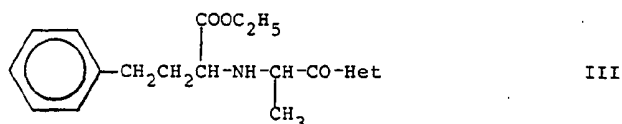
Det er beskrevet en fremgangsmåte til fremstilling av L-alanyl-L-prolinderivater med formelen



hvor R er etyl eller hydrogen, samt farmasøytisk akseptable salter derav, hvor N,O-bis(trimetylsilyl)-L-prolin med formelen II

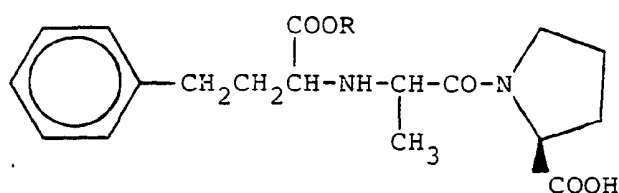


omsettes med N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanin-derivatet med den generelle formel III



hvor Het er et imidazol-1- eller et 2-tiobenzotiazolradikal, i upolare organiske løsningsmidler, såsom dioksan, tetrahydrofuran, metylenklorid, fortrinnsvis tetrahydrofuran, ved en temperatur i området fra -10 til +20°C, og at den oppnådde forbindelse med formelen (I), hvor R er etyl, dersom det er ønskelig, hydrolyseres til en forbindelse med formelen I, hvor R er hydrogen.

Den foreliggende oppfinnelse vedrører området kjemi om peptider og vedrører en fremgangsmåte til fremstilling av L-alanyl-L-prolinderivater med formelen



hvor R er etyl eller hydrogen, samt farmasøytisk akseptable salter derav.

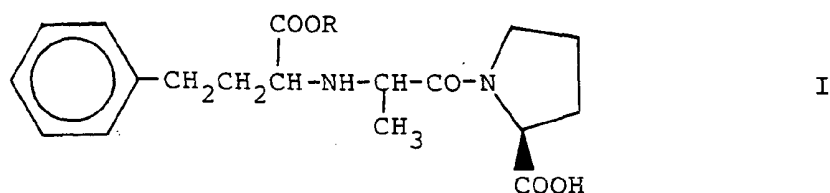
Forbindelsen med formelen I inhiberer omdannelsen av dekaeptidet angiotensin I til angiotensin II, som virker som blodtrykksregulator. Enzymet renin, som utskilles av nyren, virker på det ene av plasmaeptidene, dvs. på reninsubstratet angiotensinogen. Det sistnevnte utskilles av leveren, og fra dette substrat utvinnes dekaeptidet angiotensin I. Angiotensin I omdannes til angiotensin II ved hjelp av enzymet angiotensinase. Forbindelsen med den generelle formel I inhiberer imidlertid enzymet angiotensinase og er egnet for behandling av kardiovaskulære sykdommer, særlig for høyt blodtrykk.

Det forelå et behov for å finne en ny fremgangsmåte til fremstilling av L-alanyl-L-prolinderivater med formelen I, som ville være teknologisk og økonomisk mer gunstig enn kjente fremgangsmåter.

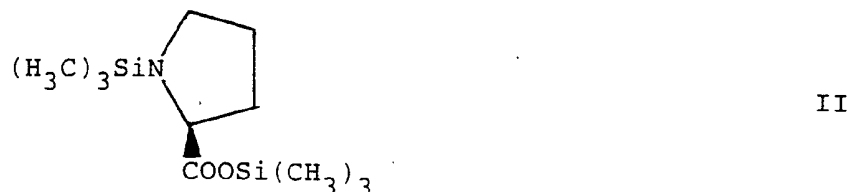
Ved kjente fremgangsmåter fremstilles L-alanyl-L-prolin-derivater med formelen I ved kondensasjon av etyl-4-fenyl-2-oksybutanoat med L-alanyl-L-prolin og ved hydrogenering

(US-patentskrift 4.374.829) eller ved kondensasjon av N-karboksy-anhydrid-N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanin med et salt av L-prolin (EP A 215.335).

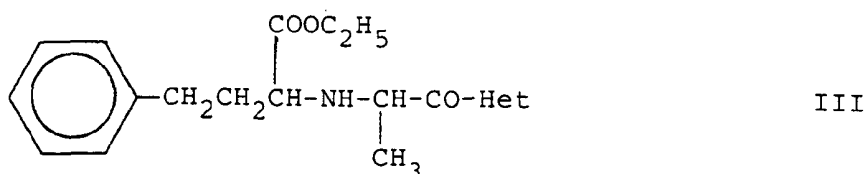
Fremgangsmåten ifølge den foreliggende oppfinnelse til fremstilling av L-alanyl-L-prolinderivater med den generelle formel I



hvor R er etyl eller hydrogen, og av farmasøytisk akseptable salter derav, kjennetegnes ved at N,O-bistrimetylsilyl-L-prolin med formelen II



omsettes med N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanin-derivatet med den generelle formel III



hvor Het er et imidazol-1- eller et 2-tiobenzthiazolradikal, i upolare organiske løsningsmidler, såsom dioksan, tetrahydrofuran, metylenklorid, fortrinnsvis tetrahydrofuran, ved en temperatur i området fra -10 til +20°C, og at den oppnådde forbindelse med formelen (I), hvor R er etyl, dersom det er ønskelig, hydrolyseres til en forbindelse med formelen I, hvor R er hydrogen.

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen avviker fra kjente fremgangsmåter ved at det anvendes N,O-bistrimetylsilyl-L-prolin med formelen II, som kondenseres med et amid eller en tioester med formelen III. Den er fordelaktig ved at kondensasjonstiden er kortere og at reaksjonen er kvantitativ.

Utgangsforbindelsene med formlene II og III er kommersielt tilgjengelige eller kan fremstilles på kjent måte.

Oppfinnelsen vil bli nærmere belyst mer detaljert i de etterfølgende eksempler.

Eksempel 1

N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanyl-L-prolin-maleinsyresalt.

Til en løsning av 2,8 g N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanin i 40 ml metylenklorid ble det etter at løsningen var avkjølt til -5°C tilsatt 2,44 g N,N'-karbonyldiimidazol, og løsningen ble omrørt i 3 timer ved en temperatur på fra 0 til -5°C. I mellomtiden ble N,O-bistrimetylsilyl-L-prolin fremstilt ved å tilsette 4,2 ml trietylamin og 3,8 ml trimetylklorosilan til en suspensjon av 1,72 g L-prolin i 40 ml metylenklorid og ved å omrøre i en halv time ved 40°C og 2 timer ved romtemperatur. Fra det således fremstilte og avkjølte N,O-bistrimetylsilyl-L-prolin ble det dannete trietylaminhydroklorid avfiltrert og filtratet ble helt i N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanylimidazol. Omrøringen ble fortsatt ved en temperatur på fra 0 til -5°C. Etter at fravær av utgangsforbindelsen var bekreftet ved væskechromatografi ble metylenklorid avdampet. 40 ml vann og 15 ml etylacetat ble tilsatt til resten, og pH ble regulert til 8,7 med 2 N NaOH. Det vandige sjikt ble én gang til vasket med 10 ml etylacetat, og NaCl ble tilsatt inntil løsningen var mettet, og 15 ml etylacetat ble tilsatt. pH ble regulert til 4,2 med 1:1 HCl, sjiktene ble adskilt og det vandige sjikt ekstrahert med 7 x 8 ml etylacetat. Etylacetatsjiktene ble tørket med Na₂SO₄ og N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanyl-L-prolin ble utfelt med 1,2 g maleinsyre. Bunnfallet ble avfiltrert og tørket i en vakuumbørker ved 40°C. 4,1 g (83%) av tittelforbindelsen ble oppnådd, smp. 143-147°C.

Eksempel 2

Til en løsning av 1,4 g N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanin i 40 ml tetrahydrofuran ble det tilsatt 0,85 g 2-merkaptobenzotiazol, og den resulterende blanding ble avkjølt til 0°C. Deretter ble 1,2 g N,N'-dicykloheksylkarbodiimid tilsatt, og den resulterende blanding ble omrørt ved en tempera-

tur på fra -5°C til 0°C i 3 timer. Dicykloheksylurea som ble utskilt, ble avfiltrert, og den således fremstilte ester av 2-merkaptobenzotiazol og N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanin ble tilsatt dråpevis til avkjølt (0°C) N,O-bis(trimetylsilyl)-L-prolin, som på forhånd var fremstilt ved tilsetning av 2,8 ml trietylamin og 2,6 ml trimetylklorsilan til en suspensjon av 1,1 g L-prolin i 40 ml tetrahydrofuran og omrøring ved romtemperatur i 3 timer. Omrøringen ble fortsatt inntil fravær av utgangsforbindelsen ble påvist ved væskechromatografi.

Tetrahydrofuran ble avdampet, 20 ml vann og 10 ml metylenklorid ble tilsatt til resten, pH ble regulert med 2 N natriumhydroksid til 8,7, og sjiktene ble adskilt. Natriumklorid ble tilsatt til det vandige sjikt inntil løsningen var mettet, det vandige sjikt ble dekket med 15 ml etylacetat og regulert til pH 4,2 med saltsyre. Sjiktene ble adskilt og det vandige sjikt ekstrahert med 4 x 8 ml etylacetat. De kombinerte etylacetatsjikt ble tørket med natriumsulfat, og N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanyl-L-prolin ble utfelt med 0,6 g maleinsyre. Bunnfallet ble avfiltrert og tørket i vakuum ved 40°C . 1,5 g (61%) av tittelforbindelsen ble derved oppnådd.

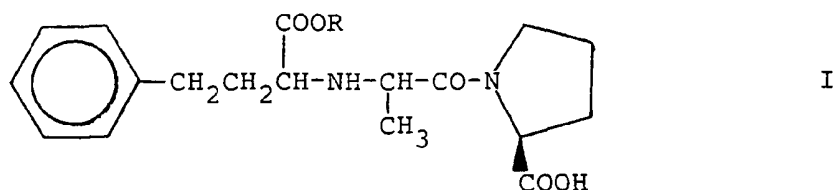
Eksempel 3

N-[1(S)-karboksy-3-fenylpropyl]-L-alanyl-L-prolin.

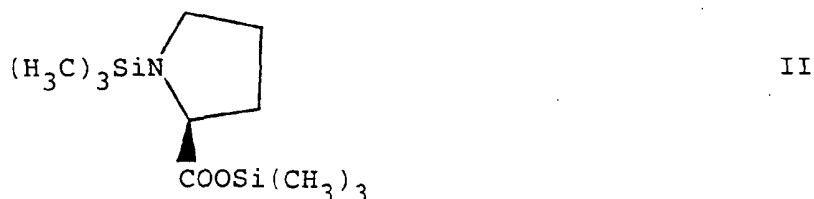
1 g av N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alanyl-L-prolin, som ble oppnådd ifølge eksempel 1, ble løst i 5 ml etanol og 5 ml vann som inneholdt 320 mg natriumhydroksid, og løsningen ble omrørt inntil hydrolysen var fullstendig. Etter at hydrolysen var fullført ble løsningsmidlet avdampet under senket trykk. Resten ble løst i 10 ml vann, som var mettet med natriumklorid. Den resulterende løsning ble dekket med 10 ml etylacetat, og pH-verdien ble regulert til 4,2 med saltsyre. Det vandige sjikt ble ekstrahert med 2 x 10 ml etylacetat. Deretter ble de kombinerte etylacetatsjikt tørket og inndampet. Derved ble 0,71 g (76%) av tittelforbindelsen oppnådd, smp. $146-152^{\circ}\text{C}$.

P A T E N T K R A V.

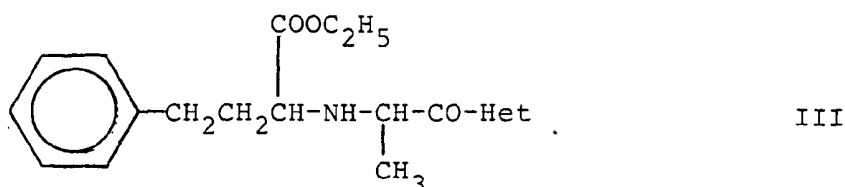
Fremgangsmåte til fremstilling av L-alanyl-L-prolinderivater med formelen



hvor R er etyl eller hydrogen, samt farmasøytisk akseptable salter derav, k a r a k t e r i s e r t v e d a t N,O-bistrimetylsilyl-L-prolin med formelen II



omsettes med N-[1(S)-etoksykarbonyl-3-fenylpropyl]-L-alaninderivatet med den generelle formel III



hvor Het er et imidazol-1- eller et 2-tiobenzthiazolradikal, i upolare organiske løsningsmidler, såsom dioksan, tetrahydrofuran, metylenklorid, fortrinnsvis tetrahydrofuran, ved en temperatur i området fra -10 til +20°C, og at den oppnådde forbindelse med formelen (I), hvor R er etyl, dersom det er ønskelig, hydrolyseres til en forbindelse med formelen I, hvor R er hydrogen.