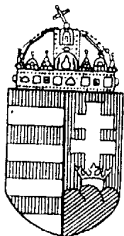


(19) Országkód:

HU



MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

203 369 B

(22) Bejelentés napja: 1989.12.08.

(21) 6480/89

(33) DE

(32) 1988.12.09.

(31) P 38 41 520.8

(51) Int Cl⁵

C 07 K 5/06

A 61 K 37/64

(41) (42) Közzététel napja: 1990.07.30.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma

a Szabadalmi Közlönyben: 1991.07.28. SZKV/1991.07.

(72) Feltalálók:

dr. Rürger Wolfgang, Kelkheim/Taunus,
dr. Urbach Hansjörg, Kronberg/Taunus,
dr. Ruppert Dieter, Kronberg/Taunus,
dr. Schölkens Bernward, Kelkheim/Taunus (DE)

(73) Szabadalmaz:

Hoechst AG., Frankfurt/Main (DE)

(54) ELJÁRÁS ENZIMGÁTLÓ DIPEPTID-KARBAMOIL-SZÁRMAZÉKOK ÉS EZEKET TARTALMAZÓ GYÓGYSZERKÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány szerint előállított dipeptid-karbamoil-származékok (I) általános képletében

R¹ jelentése alkilcsoport,

A jelentése N-terminálisan -CO- csoporthoz és C-terminálisan B csoporthoz kapcsolódó fenil-alanin vagy β-2-tienil-alanin,

B jelentése N-terminálisan A csoporthoz és C-terminálisan -NH-CH(R²)- csoporthoz kapcsolódó norvalin vagy hisztidin,

R² jelentése alkilcsoport, cikloalkil-alkil-csoport vagy fenil-alkil-csoport,

R³ jelentése hidrogénatom,

X jelentése közvetlen kötés vagy -CHR⁸-képletű

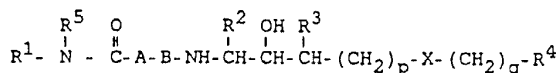
csoport, ahol R⁸ jelentése hirogénatom vagy fluoratom,

R⁴ jelentése piridilcsoport vagy N-alkil-imidazol-2-il-csoport,

p és q értéke egymástól függetlenül 0, 1 vagy 2,

R⁵ jelentése valamely R¹ jelentésében megadott csoport, vagy

R¹ és R⁵ a kapcsolódó nitrogénatommal együtt piperidinocsoportot, piperazinocsoportot, morfolinocsoportot, tiomorfolinocsoportot, N-alkil-piperazino-csoportot, vagy N-(alkoxi-karbonil)-piperazino-csoportot képez.



(I)

A leírás terjedelme: 8 oldal, 3 ábra

HU 203 369 B

A találmány tárgya eljárás enzimgátló új peptid-karbamoid-származékok és cseket hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására.

A 265 082 számú európai szabadalmi leírás olyan di- és tripeptid-származékokat ismertet, amelyek az N-terminális végen többek között egy monoszubsztituált karbamidfragmenst hordozhatnak és amelyek renin-gátló hatással rendelkeznek. A 283 970 számú európai szabadalmi leírás renin-gátló dipeptid-karbamid-származékokat ismertet.

Meglepő módon olyan új diszubsztituált dipeptid-karbamid-származékokat találtunk, amelyek a 255 082 számú európai szabadalmi leírásból ismert vegyületekből az N-terminális nitrogénatomon található további szubsztituensben és a 283 970 számú európai szabadalmi leírásból ismert vegyületektől az R^4 szubsztituens természetében különböznek, és amelyek in vitro és in vivo körülmények között hatékonyan gátolják a renin-enzimet és a retrovírusos aszpartil-proteáz-enzimet.

A találmány tárgya tehát eljárás (I) általános képletű és aszimmetriás szénatomjain S-konfigurációjú dipeptid-karbamid származékok és fiziológiailag alkalmazható sói előállítására, a képletben

R^1 jelentése 1–6 szénatomos alkilcsoport

A jelentése N-terminálisan -CO- csoporthoz és C-terminálisan B csoporthoz kapcsolódó fenil-alanin, vagy β -2-tienil-alanin,

B jelentése N-terminálisan A csoporthoz és C-terminálisan -NH-CH(R^2)- csoporthoz kapcsolódó norvalin vagy hisztidin,

R^2 jelentése 1–6 szénatomos alkilcsoport, cikloalkilrészében 4–7 szénatomos és alkilrészében 1–4 szénatomos cikloalkil-alkil-csoport, vagy alkilrészében 1–4 szénatomos fenil-alkil-csoport,

R^3 jelentése hidrogénatom,

X jelentése közvetlen kötés vagy -CHR⁸- képletű csoport, ahol

R^8 jelentése hidrogénatom vagy fluoratom,

R^4 jelentése piridilcsoport vagy alkilrészében 1–4 szénatomos N-alkil-imidazol-2-il-csoport,

p és q értéke egymástól függetlenül 0, 1 vagy 2,

R^5 jelentése valamely R^1 jelentésében megadott csoport vagy

R^3 és R^1 a kapcsolódó nitrogénatommal együtt piperidinocsoportot, piperazinocsoportot, morfolinocsoportot, tiomorfolinocsoportot, alkilrészében 1–4 szénatomos N-alkil-piperazino-csoportot vagy alkoxirészében 1–6 szénatomos N-(alkoxi-karbonil)-piperazino-csoportot képez.

Az alkilcsoport lehet egyenes- vagy elágazószénláncú, és ugyanez érvényes az alkilcsoportból levezethető csoportokra, így például az alkoxicsoportha is.

Az (I) általános képletben előforduló A és B jelentésébe eső aminosavak amidkötéssel kapcsolódnak egymáshoz, ahol az aminosavak térállása lehet L-, D- vagy DL-konfigurációjú, előnyösen L-konfigurációjú.

Az (I) általános képletű vegyületek sói közül első sorban a farmakológiailag alkalmazható vagy nem-toxikus sók jöhetnek szóba.

Ezek közé tartoznak például a savas csoportot, például karboxilcsoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek alkálifémekkel vagy alkáliföld-

fémekkel, így nátriummal, káliummal, magnéziummal vagy kalciummal, valamint fiziológiailag alkalmazható szerves aminosavakkal, például trietil-aminval vagy tri(2-hidroxi-etil)-aminnal képzett sói.

5 A bázikus csoportot, például aminocsoportot vagy guanidinocsoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek sóit képezhetnek szerves savakkal, például sósavval, kénsavval vagy foszforsavval, valamint szerves karbonsavakkal vagy szulfonsavakkal, például ecetsavval, citromsavval, benzo-

10 savval, maleinsavval, fumársavval, borkósavval és p-toluol-szulfonsavval.

Előnyösek azok az (I) általános képletű vegyü-

15 tek és fiziológiailag alkalmazható sói, amelyek kép-
letében

R^1 jelentése 1–6 szénatomos alkilcsoport,

20 A jelentése N-terminálisan -CO- csoporthoz és C-terminálisan B csoporthoz kapcsolódó fenil-alanin,

B jelentése N-terminálisan A csoporthoz és C-terminálisan -NH-CH(R^2)- csoporthoz kapcsolódó norvalin vagy hisztidin,

25 R^2 jelentése izobutilcsoport, ciklohexil-metilcsoport vagy benzilcsoport

R^3 jelentése hidrogénatom,

X jelentése közvetlen kötés -CHR⁸- képletű csoport, ahol

R^8 jelentése hidrogénatom vagy fluoratom,

30 R^4 jelentése 2-piridilcsoport, 3-piridilcsoport, 4-piridilcsoport vagy nitrogénatomján, metilcsoporttal vagy etilcsoporttal szubsztituált 2-imidazolil-csoport,

p és q értéke egymástól függetlenül 0, 1 vagy 2,

R^5 jelentése valamely R^1 jelentésében megadott csoport,

35 R^3 és R^1 a kapcsolódó nitrogénatommal együtt piperidinocsoportot, morfolinocsoportot, tiomorfolinocsoportot vagy piperazinocsoportot képez, amely utóbbi adott esetben metilcsoporttal, etilcsoporttal, propilcsoporttal, izopropilcsoporttal, n-butilcsoporttal szubsztituálva lehet.

40 Az (I) általános képletű dipeptid-karbamoid-származékok és fiziológiailag alkalmazható sói a találmány értelmében előállíthatók, ha

45 egy (II) általános képletű vegyületet, a képletben R^2 , R^3 , R^4 , A, B, X, p és q jelentése a fenti, egymás után (III) általános képletű szénsav-származékkal, a képletben

50 R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül halogénatom, 1–7 szénatomos alkoxicsoporthoz, 6–12 szénatomos aril-oxi-csoport, 1–7 szénatomos alkil-tio-csoport, 6–12 szénatomos aril-tio-csoport vagy Het- vagy Het-O- csoport, ahol Het jelentése mono- vagy biciklusos heterociklusos csoport, vagy

55 R^9 és R^{10} a karbonilcsoporttal együtt (a) vagy (b) általános képletű mono- vagy biciklusos heterociklusos gyűrűt képez, majd (IV) általános képletű aminnal reagáltatunk, a képletben

R^1 és R^5 jelentése a fenti,

60 és a funkciós csoportok ideiglenes védelmére adott esetben bevitt védőcsoportokat kívánt esetben lehasítjuk,

és a kapott vegyületet kívánt esetben fiziológiailag alkalmazható sóvá alakítjuk.

65 A reakciópartnerként alkalmazott (III) általános

képletű vegyület előnyösen foszgén, 1,1'-karbonil-diimidazol, 1,1'-karbonil-di(1,2,4)-triazol, di(N-szukcinimidil)-karbonát, di(1-benzotriazolil)-karbonát, N,N'-karbonil-bisz(2-metil-imidazol)- vagy 4,6-difenil-tienof[3,4-d]-1,3-dioxol-2-on-5,5-diox id (Steglich-Reagens).

Az eljárás során előnyösen inert szerves oldószer, előnyösen tuolol, metilén-klorid, kloroform, tetrahidrofuran, dimetil-formamid vagy acetonitril jelenlétében, adott esetben segédbázis, például kálium-karbonát, nátrium-karbonát, trietilamin, piridin, 1,5-diaza-biciklo[5.4.0]undec-5-én vagy 1,5-diaza-biciklo[4.3.0]non-5-én, előnyösen piridin jelenlétében, például -80°C és az oldószer forráspontja közötti, előnyösen -80 és $+50^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten dolgozunk.

Az (I) általános képletű vegyületek előállíthatók úgy is, hogy végállású karboxilcsoportot tartalmazó fragmenst vagy ennek reakcióképes származékát szabad aminos csoportot tartalmazó megfelelő fragmenssel kapcsoljuk, adott esetben a további funkció csoportok ideiglenes védelmére bevezetett védő csoportokat eltávolítjuk és a kapott vegyületet kívánt esetben fiziológiailag alkalmazható sóvá alakítjuk.

A (II) általános képletű vegyületek előállíthatók, ha (V) általános képletű vegyületről, a képletben $R^2, R^3, R^4, A, B, X, p$ és q jelentése a fenti,

R^{11} jelentése könnyen lehasítható amino védő csoport, előnyösen terc-butyl-oxi-karbonil-csoport vagy benzil-oxi-karbonil-csoport,

a védő csoportot a szokásos módon, például savas vagy lúgos hidrolízissel vagy hidrogenolízissel eltávolítjuk, amelynek során a hidroxilcsoportot adott esetben ideiglenesen védjük.

A (III) és (IV) általános képletű vegyületek az irodalomból ismertek és nagyrészt a kereskedelmi forgalomban hozzáférhetők. Az (V) általános képletű vegyületek ismertek a 255 082 számú európai szabadalmi leírásból, illetve az ott leírttal analóg módon a megfelelő kiindulási anyagokból előállíthatók.

Az (I) általános képletű vegyületek végállású karboxilcsoportot tartalmazó fragmensei a (VIIa) és (VIIb) általános képlettel ábrázolhatók, a képletben R^2, R^3, R^4, B, X, p és q jelentése a fenti.

Az amidvegyületek előállítására alkalmas eljárásokat ismertek például Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie, 15/2. kötet, Bodanszky és munkatársai: Peptide synthesis, 2. kiadás, Wiley and Sons, New York, 1976, valamint Gross, Meienhofer: The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology, Academic Press, New York, 1979). Előnyösen alkalmazható eljárás például az aktívészter módszer, amelynek során észterkomponensként használható például N-hidroxi-szukcinimid, a karbodiimiddel és diciklohexilkarbodiimiddel vagy propán-foszonsavanhidriddel végzett kapcsolat, valamint a vegyes anhidrid módszer, például pivaloil-kloriddal.

A kiindulási anyagként alkalmazott optikailag aktív (VIIb) általános képlet aminosavakból, amelyek során az aszimmetriacentrum változatlan marad. Ehhez a szokásos módon egy N-védett aminosav-aldehidet állítunk elő, amelyet egy aldol-analóg

addícióval egy megfelelő heteroaril-alkil-részhez kapcsolunk, amelyből az N-védő csoport lehasítása után (VIIb) általános képletű amino-alkoholt kapunk. Eljárhatunk úgy is, hogy a szokásos módon a védett amino-aldehidből allilaminon keresztül epoxidot állítunk elő. Ez vagy közvetlenül a megfelelő aril-alkil-nukleofillal reagáltatható, vagy az epoxidot először trimetil-szilil-kloriddal és nátrium-joddiddal acetonitrilben felnyitjuk, a szililétert CsF segítségével hasítjuk és a jodidot 2,2-dimetoxi-propánnal savas katalízis segítségével oxazolidinként védjük. Ez a jodid kevés reakcióképes nukleofillel reagáltatható. Az egy $-\text{CH}_2-$ csoporttal meghosszabbított aril-alkil-szubsztituált amino-alkoholok előállításához például Boc-ACHPA-OEt-ből [J. Med. Chem. 28, 1779 (1985)] indulunk ki. Először N,O-védelmet viszünk be, az észtercsoportot redukáljuk, a hidroxilcsoportot bromiddá alakítjuk, és ezt az elektrofil vegyületeknél megadott módon aril-alkil-nukleofillel reagáltatjuk. Aril-alkil-nukleofilként alkalmazható például acetilimin és acetilhidrazon, az egy vagy több $-\text{CH}_2-$ csoporttal meghosszabbított aril-alkil-szubsztituált amino-alkoholok további képviselői előállíthatók a szokásos lánchosszabbító eljárásokkal. Ha az alkalmazott eljárással a hidroxilcsoportot hordozó centrum vonatkozásában diasztereomert kapunk, akkor ez a szokásos módon, például frakcionált kristályosítással vagy kromatográfiásan szétválasztható. A diasztereomer tisztasága HPLC segítségével, az enantiomerek tisztasága ismert módon, Mosher-származékká történő átalakítással ellenőrizhető [H.S. Mosher és munkatársai: J. Org. Chem. 34, 2543 (1969)].

Az N-védett aminosav-aldehideket B. Castro és munkatársai módszerével [Synthesis, (1983) 676] állítjuk elő.

Az aril-alkil-nukleofilnak az adott N-védett elektrofil vegyületre (előnyösen N-terc-butoxi-karbonil-csoporttal vagy benzil-oxi-karbonil-csoporttal védett vegyületre) történő addícióját bázissal szemben inert oldószerben, így éterben, tetrahidrofuranban, toluolban, dimetil-formamidban, dimetil-szulfoxidban vagy dimetoxi-etánban végezzük.

A heteroaril-alkil-komponens deprotonálásához bázisként alkalmazható alkálifém-alkoholát, így kálium-O-terc-butylát, nátrium-metilát, alkálifém-hidrid, így nátrium- vagy kálium-hidrid, fémorganikus bázis, így n-butyl-lítium, nátrium-amin, valamint szerves nitrogén bázisok alkálifém sója, így lítium-diizopropil-amid.

Az (I) általános képletű vegyületek előállításához alkalmazott előzetes és utólagos műveletek, így a védő csoportok bevitele és lehasítása, az irodalomból ismert (például T.W. Greene: Protective Groups in Organic Synthesis). A sóképző csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek sói a szokásos módon előállíthatók, amelynek során például a bázikus/savas csoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületet sztöchiometriai mennyiségű megfelelő savval/bázissal reagáltatjuk. A gyakorlati megvalósításhoz a vegyületet oldószerben, például alkoholban, előnyösen etanolban oldjuk. Bázisos/savas csoportonként hozzáadunk 1 mólekvalens savat/bázist, mintegy 30 percen keresztül szobahőmérsékle-

ten keverjük, majd az oldószert forgó vákuum bepárlóban eltávolítjuk. A racém A és B aminosavak alkalmazása esetén képződő sztereoizomer elegyek, így a diasztereomer elegyek ismert módon, például frakcionált kristályosítással vagy kromatográfiásan szétválaszthatók.

Az új (I) általános képletű dipeptid-karbamoid-származékok erős enzimgátló hatással rendelkeznek, elsősorban az aszpartilproteázokat, így a renint és a vírusos proteázokat, így a HIV proteázt gátolják.

A renin az aszpartil-proteázok osztályába tartozó proteolitikus enzim, amely különböző ingerek (nagy térfogatú ürítés, nátrium-hiány, β -receptor stimuláció) hatására a vese juxtaglomeruláris sejtjeiből a vérkeringésbe kerül. Ott a májból kivált angiotenzinogénről lehasítja az angiotenzin I decapeptidet. Ezt az „angiotensin converting enzyme” (ACE) angiotenzin II enzimé alakítja. Az angiotenzin II fontos szereppel bír a vérnyomás szabályozásában, amivel a véredények összehúzásával közvetlenül szabályozza a vérnyomást. Emellett stimulálja az aldoszteronnak a mellékvesékből történő kiválasztását és így növeli a nátriumkiválasztás gátlásával az extracelluláris folyadék térfogatát, amely a maga részéről szintén a vérnyomás növekedését fokozza. A renin enzimetikus aktivitásának gátlói csökkentik az angiotenzin I képzését, amelynek következménye az angiotenzin II termelés csökkenése. A renin-gátlók vérnyomáscsökkentő hatásának közvetlen oka tehát a fenti aktív peptid hormon koncentrációjának csökkentése.

A renin-gátlók hatékonyságát in vitro vizsgálattal ellenőrizhetjük. Ennek során az angiotenzin I képződésének csökkenését különböző rendszerekben (humán plazma, tisztított humán renin) mérjük.

A vizsgálat alapelve, hogy például a humán plazmát, amely mind renint, mind angiotenzinogént tartalmaz, 37°C hőmérsékleten a vizsgálandó vegyülettel inkubáljuk. Ennek során az angiotenzinogénből a renin hatására angiotenzin I válik ki, amely a szokásos radioimmuno assay vizsgálattal mérhető. A renin-gátlók ezt az angiotenzin felszabadulást gátolják.

A plazma előállításához önkéntes jelentkezőktől vért veszünk (mintegy 0,5 liter fejenként, Bluko-Entnahmegerät der Fa. ASID Bonz und Sons, Unterschleissheim, NSZK) és jégűtés közben részben légtelenített üvegekben felfogjuk. A véralvadás megállításához 10 mmól/l végkoncentrációban EDTA-t adagolunk, majd a mintát 3500 fordulat/perc mellett $0-4^\circ\text{C}$ közötti hőmérsékleten 15 percen keresztül centrifugáljuk (HS 4 rotor, Sorvall), amelyet kívánt esetben megismételünk, majd a plazmát pipettával óvatosan eltávolítjuk sé megfelelő adagokban -30°C hőmérsékleten fagyasztjuk. A vizsgálatokhoz csak a megfelelő renin-aktivitást mutató plazmát alkalmazzuk. Az alacsony renin-aktivitást mutató plazmát megfelelő kezeléssel (-4°C hőmérsékleten tárolva 3 napon keresztül) aktiváljuk, amelynek során a prereninből renin képződik.

A vizsgálatok megvalósításához az angiotenzin I mennyiségét Renin-Maia készlettel (Serono Diagnostics S.A., Coinsins, Svájc) határozzuk meg. A

plazma inkubálását az ott megadott útmutató szerint végezzük. Az inkubáláshoz alkalmazott oldatokat:

5 1000 μl plazma ($0-4^\circ\text{C}$ hőmérsékleten felolvasztva)

100 μl foszfát puffer (pH= 7,4) (adalékanyag 10^{-4} mól/l ramiprilát)

10 μl PMSF-oldat

10 μl 0,1 tömeg%-os Genapol PFIC

10 12 μl dimetil-szulfid, illetve tesztkészítmény.

A tesztkészítményt 10^{-2} mól/l koncentrációban 100 tömeg%-os dimetil-szulfidban oldjuk és dimetil-szulfiddal a kívánt koncentrációra hígítjuk. Az inkubáláshoz alkalmazott oldat legfeljebb 1 tömeg% dimetil-szulfidot tartalmazhat.

15 Az oldatokat jégen hűtve összekeverjük és egy óráan keresztül vízfürdőben 37°C hőmérsékleten inkubáljuk. Egy további vizsgálati elegyből, amely inhibítort nem tartalmaz, inkubálás nélkül összesen hat mintát (egyenként 100 μl) veszünk a kiinduló angiotenzin I tartalom meghatározására.

20 A vizsgálati készítmények koncentrációját úgy választjuk meg, hogy mintegy 10–90%-os enzimgátlásnak feleljen meg (legalább öt különböző koncentráció). Az inkubálás végén minden elegyből háromszor 100 μl mintát veszünk egy előre lehűtött Eppendorf edényben, majd száraz jégen fagyasztjuk és mintegy -25°C hőmérsékleten tároljuk az angiotenzin I mennyiségének meghatározásáig (három mérésből számolunk átlagértéket).

30 Az angiotenzin I radioimmuno assay vizsgálatához pontosan betartjuk a Renin-Maia készlet előírásait. A koncentrációgörbét 0,2–25,0 ng/ml angiotenzin I koncentrációnál vesszük fel. Az alap angiotenzin I tartalmat minden mérési eredményből levonjuk. A plazma renin-aktivitást (PRA) az angiotenzin I-re vonatkoztatott ng/ml x óra mértékegységben adjuk meg. A vizsgált hatóanyag jelenlétében mért PRA értéket inhibitor nélküli minta eredményére, mint 100%-ra vonatkoztatjuk és ez alapján százalékos maradék aktivitást adunk meg. A maradék aktivitást a vizsgált hatóanyag koncentrációjával szemben ábrázolva meghatározzuk az IC_{50} értéket.

45 Az új (I) általános képletű vegyületek in vitro körülmények között 10^{-5} – 10^{-10} mól/l koncentrációban mutatnak gátlást.

A renin-gátlók sószegegy állatokban csökkentik a vérnyomást. Mivel az emberi renint megkülönböztetik a más fajoktól származó renintől, az in vivo vizsgálatokhoz főemlősök, például Rhesus-majom alkalmazhatók. A főemlős renin és a humán renin szekvenciájában messzemenően homológ. Furoszemid i.v. injekció formában történő beadásával endogén renin kiválasztást váltunk ki. A vizsgált hatóanyagot folyamatos infúzió formájában adagoljuk és a vérnyomásra és a szívfrekvenciára gyakorolt hatását mérjük. Az új (I) általános képletű hatóanyagok mintegy 0,1–5 mg/kg i.v. dózisban hatékonyak gasztroszkópon keresztül intraduodenálisan adagolva a dózishatár mintegy 1–50 mg/kg. Az új (I) általános képletű vegyületek tehát felhasználhatók a magas vérnyomás csökkentésére és szívelégtelenségek kezelésére.

65 A HIV proteáz a GAG-POL polipeptidből auto-

katalitikusan leválik, és a p55 előpeptid p17, p24 és p14 Core-antigénre hasad. A HIV proteáz tehát egy esszenciális enzim, amelynek gátlása megtöri a vírus életciklusát és megakadályozza annak szaporodását.

A biológiai vizsgálatok szerint az (I) általános képletű dipeptid-karbamid-származékok enzimgátló hatással rendelkeznek és a vírusos enzimeket, így a HIV proteázt is gátolják. Különös jelentősége van a HIV proteázra gyakorolt gátló hatásnak, mert ezt lehetővé teszi a HIV fertőzéssel kiváltott betegségek kezelését és megelőzését. az in vitro vizsgálatok szerint az (I) általános képletű vegyületek mintegy 10^{-4} – 10^{-8} mól/l koncentrációban fejtik ki a gátló hatásukat.

Az (I) általános képletű vegyületek gyógyszerkészítmény formájában felhasználhatók a magas vérnyomás, kongesztív szívélgtelenség, valamint vírusos megbetegedések, így HIV okozta megbetegedések kezelésére és megelőzésére.

A gyógyszerkészítmények a hatékony mennyiségű (I) általános képletű vegyület mellett szerves vagy szerves gyógyszeralkalmazható hordozóanyagot tartalmazhatnak. Az adagolás alkalmazható intranazálisan, intravénásan, szubkután vagy orálisan. A hatóanyag mennyisége a kezelt fajtól, a testtömegétől, a kortól és az adagolás módjától függ.

A gyógyszerkészítményeket a találmány értelmében a szokásos oldási, keverési, granuláló és drázsírozó eljárásokkal állíthatjuk elő.

Orális adagoláshoz a hatóanyagot szokásos adalékanyagokkal, így hordozóanyagokkal, stabilizátorokkal, vagy inert hígítóanyagokkal keverjük, és a szokásos módon alkalmas formára alakítjuk, így tablettává, drázsává, kapszulává, vizes, alkoholos vagy olajos szuszpenzióvá vagy vizes, alkoholos vagy olajos oldattá. Inert hordozóanyagként alkalmazható gumiarábikum, magnézium, magnézium-karbonát, kálium-foszfát, tejcukor, glükóz, magnézium-sztearil-fumarát vagy keményítő, előnyösen kukoricakeményítő. A készítmény lehet száraz vagy nedves granulátum is. Olajos hordozóanyagként vagy oldószerként például növényi vagy állati olajokat, így napraforgóolajat vagy csukamájolajat használunk.

Szubkután vagy intravénás adagoláshoz a hatóanyagot vagy azok fiziológiailag alkalmazható sóit kívánt esetben alkalmas anyagokkal, így oldásközvetítőkkal, emulgeátorokkal vagy további segédanyagokkal oldattá, szuszpenzióvá vagy emulzióvá alakítjuk. Oldószerként alkalmazhatunk vizet, fiziológias konyhasó oldatot, alkoholt, például etanolt, propándiolt vagy glicerint, valamint cukoroldatot, így glükóz vagy ammitoldatot, vagy ezek keverékét.

A példákban a következő rövidítéseket alkalmazzuk:

Boc terc-butoxi-karbonil-csoport
DCI Desorption Chemical Ionisation (kémiai ionizálás deszorpciója)
FAB Fast atom bombardment (gyors atombombázás)
HOBt 1-hidroxi-benzotriazol
M molekulacsúcs

MeOH metanol

MPLC közepes nyomású oszlopkromatográfia
MS tömegspektrum.

Az aminosavak megjelölésére a peptidkémiaiban szokásos hárombetűs kódot [Eur. J. Biochem. 138, 9–37 (1984)] alkalmazzuk. Ellenkező értelmű megjelölés hiányában a megadott aminosav L-konfigurációjú.

A találmány szerinti eljárást közelebbről az alábbi példákkal világítjuk meg anélkül, hogy az oltalmi kör a példákra korlátozódna. A példákban az R_f-érték meghatározásához Kieselgel 60 abszorbenst alkalmazunk.

1. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(piperazin-1-il-karbonil)-Phe-Nva]-amino]-3S-hexanol

1a) Boc-Phe-Nva-OMe

15,0 g (0,056 mól) Boc-Phe-OH és 9,4 g (0,056 mól) Na-OMe-hidroklorid 250 ml abszolút metilén-kloridban felvett oldatához jeges hűtés közben először 38,6 ml (0,28 mól) abszolút trietilamint, majd 36,4 ml propán-foszfonsavanhidridet (50 tömeg%-os, metilén-kloridban) csepegtetünk. A reakcióelegyet 3 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, majd egy éjszakán keresztül állni hagyjuk. A hidrolízishez jeges vízre öntjük, 2 órán keresztül intenzíven keverjük, a szerves fázist elválasztjuk és 10 tömeg%-os citromsav oldattal, telített nátrium-hidrogén-karbonát oldattal és vízzel mossuk, vízmentes nátrium-szulfáton szárítjuk és bepároljuk.

Kitermelés 20,8 g (98%) cím szerinti vegyület.

R_f (metilén-klorid/MeOH 9:1) = 0,69,

MS (DCI): 378 (M+1).

1b) Boc-Phe-Nva-OH

20,1 g (0,053 mól) Boc-Phe-Nva-OMe (1a. példa) 30 ml vízben és 30 ml dioxánban felvett szuszpenziójához szobahőmérsékleten 2,5 g (0,106 mól) lítium-hidroxidot adunk és három órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük. A reakcióelegyet 10 tömeg%-os nátrium-hidrogén-szulfát oldattal megsavanyítjuk, a terméket szűrjük és diizopropil-éterrel eldörzsöljük.

Kitermelés: 19,1 g (98%).

MS (DCI): 364 (M+1).

1c) 2S-Amino-1-ciklohexil-6-(2-piridil)-3S-hexanol

214 mg (0,513 mmól) 3-Boc-4S-ciklohexil-metil-2,2-dimetil-5-(3-(2-piridil)-propil)-oxazolidin 10 ml dimetoximetánban felvett elegyéhez jeges hűtés közben 5 ml sósavval telített dimetoxietánt csepegtetünk és az elegyet egy órán keresztül 0 °C hőmérsékleten, majd 5 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük. Ezután vákuumban bepároljuk, a maradékot toluolban felvesszük, ismét bepároljuk és toluolban ismét felvesszük. Így 179 mg cím szerinti vegyületet kapunk dihidroklorid formájában.

1d) 1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-(N-(Boc-Phe-Nva)-amino)-3S-hexanol

1,7 g (3,36 mmól) 2S-amino-1-ciklohexil-6-(2-piridil)-3S-hexanol-dihidroklorid (1c. példa) 10 ml abszolút dimetil-formamidban felvett oldatához szobahőmérsékleten egymás után 1,22 g (3,36 mmól) Boc-Phe-Nva-OH-t (1b. példa) és 0,9 g HOBt-t adunk, jégfürdőn mintegy 4 °C hőmérsék-

letre hűtjük, majd ezen a hőmérsékleten egymás után 2,00 ml (15,6 mmól) N-etil-morfolint és 0,69 g (3,36 mmól) diklohexil-karbodiimidet adunk hozzá. A reakcióelegyet egy órán keresztül jégfürdőn, majd 5 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük, majd három napon keresztül állni hagyjuk. A csapadékot kiszűrjük, a szűrletet jeges vízre öntjük, és etil-acetáttal többször extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat telített nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, vízzel és telített nátrium-klorid oldattal mossuk, szárítjuk, bepároljuk és a nyersteget oszlopkromatográfiával (kiesel-gélen metilén-klorid/metanol 100:0, 98:2, 95:5 eleggyel) tisztítjuk. Így 0,8 g cím szerinti vegyületet kapunk,

R_f (metilén-klorid/MeOH 9:1) = 0,53,

MS (FAB): 623 (M+1).

1e) 1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-(N-(Phe-Nva)-amino)-3S-hexanol

97 mg 1 ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-(N-(Boc-Phe-Nva)-amino)-3S-hexanolt (1d. példa) az 1c. példában megadott módon reagáltatva 92 mg cím szerinti vegyületet kapunk dihidroklorid formájában.

1f) 1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(piperazin-1-il-karbonil)-Phe-Nva]-amino]-3S-hexanol

118 mg (0,16 mmól) 1-ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-(H-Phe-Nva)-amino]-3S-hexanol (1e) példa) 10 ml abszolút metilén-kloridban felvett oldatát -75 °C hőmérsékleten 125 mg (0,32 mmól) di(benzotriazolil)-karbonát és 26 µl (0,32 mmól) piridin 10 ml abszolút metilén-kloridban felvett oldatához csepegtetjük. A reakcióelegyet 2 órán keresztül ezen a hőmérsékleten, majd 1 órán keresztül szobahőmérsékleten keverjük. Ezután ismét -75 °C-ra hűtjük, 69 mg (0,8 mmól) piperazinnal elegyítjük, egy óra elteltével hagyjuk lassan felmelegedni és egy éjszaka keresztül szobahőmérsékleten állni hagyjuk. A reakcióelegyet bepároljuk, a maradékot etil-acetátban felvesszük, telített nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, vízzel és telített nátrium-klorid oldattal mossuk, szárítjuk, bepároljuk és a nyersteget (106 mg) MPLC segítségével Kiesel-gélen metilén-klorid/metanol 99:1-1:1 eleggyel tisztítjuk. Így 25,7 g cím szerinti vegyületet kapunk.

R_f (metilén-klorid/MeOH 9:1) = 0,03,

MS (FAB): 635 (M+1).

2. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-Phe-Nva]-amino]-3S-hexanol

108 mg (0,17 mmól) 1-ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-(H-Phe-Nva)-amino]-3S-hexanolt (1e példa) az 1f. példában megadott módon 133 mg (0,34 mmól) di(benzotriazolil)-karbonáttal és 74 µl (0,85 mmól) morfolinnal reagáltatva 56,6 mg cím szerinti vegyületet kapunk.

R_f (metilén-klorid/MeOH 9:1) = 0,39.

MS (FAB): 636 (M+1).

A megfelelő kiindulási anyagok felhasználásával és az 1-2. példában leírt eljárásokkal állíthatók elő a következő vegyületek:

3. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(dimetil-

amino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB) = 594 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,5.

5

4. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(diethyl-amino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

10

MS (FAB) = 622 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,55.

15

5. példa

1-Ciklohexil-5-(2-piridil)-2S-[N-[N-(4-metil-piperazin-1-il-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB) = 649 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,15.

20

6. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(tiomorfolil-no-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

25

MS (FAB) = 652 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,55.

30

7. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(1-piperidil-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB) = 634 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,7.

35

8. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(4-terc-butil-oxi-karbonil-piperazin-1-il-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB) = 735 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,7.

40

9. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(dimetil-amino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

45

MS (FAB) = 632 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,2.

50

10. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(diethyl-amino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB) = 660 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,15.

55

11. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB) = 674 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1) = 0,1.

60

12. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(piperazin-1-il-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

65

MS (FAB)= 673 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 5:1)= 0,1.

13. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(4-metil-piperazin-1-il-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 687 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 5:1)= 0,2.

14. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(tiomorfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 690 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 5:1)= 0,2.

15. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(1-piperidil-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 672 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,25.

16. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(4-terc-butil-oxi-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 773 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,3.

17. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-(β-2-tienil-alanil)-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 642 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,4.

18. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(piperazin-1-il-karbonil)-L-(β-2-tienil-alanil)-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 641 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,05.

19. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-(β-2-tienil-alanil)-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 680 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,1.

20. példa

1-Ciklohexil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(piperazin-1-il-karbonil)-L-(β-2-tienil-alanil)-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 679 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 5:1)= 0,15.

21. példa

1-Fenil-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 635 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,3.

22. példa

2-Metil-8-(2-piridil)-4S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 634 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 5:1)= 0,45.

23. példa

1-Ciklohexil-5-fluor-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 654 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,4.

24. példa

1-Ciklohexil-5-fluor-6-(2-piridil)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 692 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,15.

25. példa

1-Ciklohexil-6-(1-metil-imidazol-2-il)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-norvalil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 642 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 9:1)= 0,25.

26. példa

1-Ciklohexil-6-(1-metil-imidazol-2-il)-2S-[N-[N-(morfolino-karbonil)-L-fenil-alanil-L-hisztidil]-amino]-3S-hexanol

MS (FAB)= 679 (M+1), R_f (CH₂Cl₂/MeOH 5:1)= 0,3.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (I) általános képletű és aszimmetriás szénatomjain S-konfigurációjú dipeptid-karbamoid-származékok és fiziológiailag alkalmazható sói előállítására, a képletben

R^1 jelentése 1-6 szénatomos alkilcsoport

A jelentése N-terminálisan -CO- csoporthoz és C-terminálisan B csoporthoz kapcsolódó fenil-alanin, vagy β-2-tienil-alanin,

B jelentése N-terminálisan A csoporthoz és C-terminálisan -NH-CH(R^2)- csoporthoz kapcsolódó norvalin vagy hisztidin,

R^2 jelentése 1-6 szénatomos alkilcsoport, cikloalkilrészében 4-7 szénatomos és alkilrészében 1-4 szénatomos cikloalkil-alkil-csoport, vagy alkilrészében 1-4 szénatomos fenil-alkil-csoport,

R^3 jelentése hidrogénatom,

X jelentése közvetlen kötés vagy -CHR⁸- képletű csoport, ahol

R^8 jelentése hidrogénatom vagy fluoratom,

R^4 jelentése piridilcsoport vagy alkilrészében 1-4 szénatomos N-alkil-imidazol-2-il-csoport,

p és q értéke egymástól függetlenül 0, 1 vagy 2,

R^5 jelentése valamely R^1 jelentésében megadott csoport vagy

R^5 és R^1 a kapcsolódó nitrogénatommal együtt piperidinocsoportot, piperazinocsoportot, morfolinocsoportot, tiomorfolinocsoportot, alkilrészében

1–4 szénatomos N-alkil-piperazino-csoportot vagy alkoxirészében 1–6 szénatomos N-(alkoxi-karbonil)-piperazino-csoportot képez, *azzal jellemezve*, hogy

egy (II) általános képletű vegyületet, a képletben $R^2, R^3, R^4, A, B, X, p$ és q jelentése a fenti, egymás után (III) általános képletű szénsav-származékkal, a képletben

R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül halogénatom, 1–7 szénatomos alkoxicsoporthoz, 6–12 szénatomos aril-oxi-csoport, 1–7 szénatomos alkiltio-csoport, 6–12 szénatomos aril-tio-csoport vagy Het- vagy Het-O- csoport, ahol Het jelentése mono- vagy biciklusos heterociklusos csoport, vagy

R^9 és R^{10} a karbonilcsoporttal együtt (a) vagy (b) általános képletű mono- vagy biciklusos heterociklusos gyűrűt képez, majd (IV) általános képletű aminnal reagáltatunk, a képletben

R^1 és R^5 jelentése a fenti, és a funkciós csoportok ideiglenes védelmére adott esetben bevitt védőcsoportokat kívánt esetben lehasítjuk,

és a kapott vegyületet kívánt esetben fiziológiailag alkalmazható sóvá alakítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű dipeptid-karbamoil-származékok és fiziológiailag alkalmazható sói előállítására, amelyek képletében

R^1 jelentése 1–6 szénatomos alkilcsoport,

A jelentése N-terminálisan -CO- csoporthoz és C-terminálisan B csoporthoz kapcsolódó fenil-alanin,

B jelentése N-terminálisan A csoporthoz és C-terminálisan -NH-CH(R^2)- csoporthoz kapcsolódó norvalin vagy hisztidin,

R^2 jelentése izobutilcsoport, ciklohexil-metilcsoport vagy benzilcsoport

R^3 jelentése hidrogénatom,

X jelentése közvetlen kötés -CHR⁸ - képletű csoport, ahol

R^8 jelentése hidrogénatom vagy fluoratom,

R^4 jelentése 2-piridilcsoport, metil- 2-imidazolil-csoport,

p és q értéke egymástól függetlenül 0, 1 vagy 2,

R^5 jelentése valamely R^1 jelentésében megadott csoport,

15 R^5 és R^1 a kapcsolódó nitrogénatommal együtt piperidinocsoportot, morfolinocsoportot, tio-morfolinocsoportot vagy piperazinocsoportot képez, amely utóbbi adott esetben metilcsoporttal, etilcsoporttal, propilcsoporttal, izopropilcsoporttal, n-butilcsoporttal szubsztituálva lehet, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelően szubsztituált kiindulási vegyületeket alkalmazzuk.

25 3. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy valamely 1. igénypont szerint előállított (I) általános képletű dipeptid-karbamoil-származékot vagy annak fiziológiailag alkalmazható sóját, a képletben $R^1, A, B, R^2, R^3, R^4, R^5, X, p$ és q jelentése az 1. igénypontban megadott, gyógyszerészeti célra alkalmas hordozóanyaggal és adott esetben egyéb segédanyaggal keverünk össze és a keveréket gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

