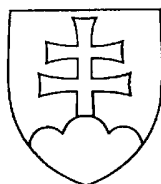


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA**

- (22) Dátum podania prihlášky: **14. 5. 2002**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **60/291 088**
60/339 575
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **15. 5. 2001**
11. 12. 2001
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US, US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **8. 6. 2004**
Vestník ÚPV SR č.: **6/2004**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/EP02/05293**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO02/092622**

(11), (21) Číslo dokumentu:

1403-2003

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :

C07K 5/06

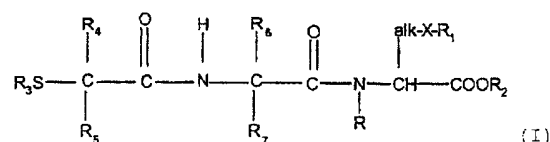
(71) Prihlasovateľ: **NOVARTIS AG, Basel, CH;**

(72) Pôvodca: **Fink Cynthia Anne, Lebanon, NJ, US;**

(74) Zástupca: **Dagmar Čechvalová, Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Dipeptidové deriváty s N-terminálnou 2-tioacylovou skupinou a farmaceutické prostriedky s ich obsahom**

(57) Anotácia:
Dipeptidové deriváty s N-terminálnou 2-tioacylovou skupinou všeobecného vzorca (I), ktoré sú duálnymi inhibítormi angiotenzín konvertujúceho enzýmu a neutrálnej endopeptidázy, inhibítormi endotelín konvertujúceho enzýmu a farmaceutické prostriedky s ich obsahom na ošetrovanie kardiovaskulárnych ochorení.



Dipeptidové deriváty s N-terminálnou 2-tioacylovou skupinou a farmaceutické prostriedky s ich obsahom

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka dipeptidových derivátov s N-terminálnou 2-tioacylovou skupinou, to znamená nových inhibítorov vazopeptidázy, ktoré sú použiteľné ako duálne inhibítory angiotenzín konvertujúceho enzýmu (ACE) a neutrálnej endopeptidázy (NEP, EC 3.4.24.11), a farmaceutických prostriedkov s ich obsahom.

Podstata vynálezu

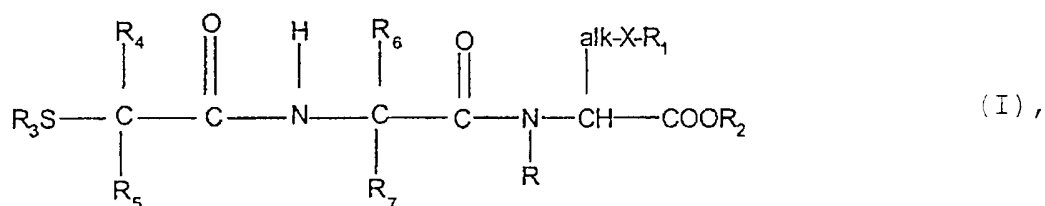
Predložený vynález sa týka nových inhibítorov vazopeptidázy opísaných ďalej, ktoré sú použiteľné ako duálne inhibítory angiotenzín konvertujúceho enzýmu (ACE) a neutrálnej endopeptidázy (NEP, EC 3.4.24.11). Zlúčeniny podľa vynálezu sú použiteľné najmä na liečenie alebo/a prevenciu stavov, ktoré sú vnímavé voči inhibícii ACE a NEP, najmä kardiovaskulárnych ochorení, ako sú hypertenzia, izolovaná systolická hypertenzia, zlyhanie obličiek (vrátane edému a retencie solí), pľúcny edém, hypertrofia ľavej komory, zlyhanie srdca (vrátane kongestívneho zlyhania srdca) a ateroskleróza. Zlúčeniny podľa vynálezu sú použiteľné tiež na znižovanie zvýšených plazmatických hladín cholesterolu u cicavcov. Ďalej tiež inhibujú endotelín konvertujúci enzým (ECE) a sú použiteľné na liečenie alebo/a prevenciu stavov, ktoré sú vnímavé voči inhibícii ECE.

Vďaka ich inhibícii neutrálnej endopeptidázy môžu byť zlúčeniny podľa vynálezu použiteľné tiež na liečenie bolesti, depresie, určitých psychotických stavov a kongnitívnych porúch. K ďalším potenciálnym indikáciám patrí liečenie angíny, premenštruálneho syndrómu, Menierovej choroby, hyperaldosteronizmu, hyperkalciurie, ascitu, glaukómu, astmy a gastrointestinálnych

ochorení, ako sú hnačka, syndróm dráždivého tračníka a žalúdočná hyperacidita.

Vďaka ich inhibícii ECE môžu byť zlúčeniny podľa vynálezu použiteľné tiež na liečenie alebo/a prevenciu stavov a ochorení závislých od endotelínu, zahŕňajúcich mozgovú ischémiu (mŕtvi-
cu), subarachnoidnú hemoragiú, traumatické poranenie mozgu, mozgový vazospazmus, arteriálnu hypertrofiu, restenózu, Raynaudovo ochorenie, infarkt myokardu, obezitu; tiež hyperpláziu prostaty, migrénu, diabetes melitus (diabetickú nefropatiu), preeklampsiu, glaukóm a transplantačnú rejekciu, ako napr. u transplantácie aorty alebo pevných orgánov; ako aj erektilnú dysfunkciu.

Predložený vynález sa týka zlúčenín všeobecného vzorca I



v ktorom

R znamená atóm vodíka, nižšiu alkylovú skupinu, karbocyklickú skupinu alebo heterocyklickú aryl-nižšiu alkylovú alebo cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu;

R¹ znamená nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu alebo biarylovú skupinu; alebo

R¹ znamená (cykloalkyl, karbocyklický aryl, heterocyklický aryl alebo biaryl)-nižšiu alkylovú skupinu;

alk znamená nižšiu alkylénovú skupinu;

R³ znamená atóm vodíka alebo acylovú skupinu;

R⁴ znamená atóm vodíka, prípadne substituovanú nižšiu alkylovú skupinu, karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu, (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú

skupinú, cykloalkylovú skupinu, cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu, biarylovú skupinu, biaryl-nižšiu alkylovú skupinu, oxacykloalkylovú skupinu, tiacykloalkylovú skupinu, azacykloalkylovú skupinu alebo (oxacykloalkyl, tiacykloalkyl alebo azacykloalkyl)-nižšiu alkylovú skupinu;

R⁵ znamená atóm vodíka alebo nižšiu alkylovú skupinu; alebo

R⁴ a R⁵ spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú cykloalkylidénovú skupinu, benzo-kondenzovanú cykloalkylidénovú skupinu; alebo päť- alebo šesťčlennú (oxacykloalkylidénovú skupinu, tiacykloalkylidénovú skupinu alebo azacykloalkylidénovú skupinu), pričom je každá prípadne substituovaná nižšou alkylovou skupinou alebo aryl-nižšou alkylovou skupinou;

R⁶ znamená nižšiu alkylovú skupinu, karbocyklickú alebo heterocyklickú aryllovú skupinu, (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu, biarylovú skupinu alebo biaryl-nižšiu alkylovú skupinu;

R⁷ znamená nižšiu alkylovú skupinu, (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu alebo biaryl-nižšiu alkylovú skupinu; alebo

R⁶ a R⁷ spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú troj- až desaťčlennú cykloalkylidénovú skupinu, ktorá môže byť substituovaná nižšou alkylovou skupinou alebo aryl-nižšou alkylovou skupinou alebo môže byť nakondenzovaná na nasýtený alebo nenasýtený karbocyklický päť- až sedemčlenný kruh; alebo päť- alebo šesťčlennú (oxacykloalkylidénovú skupinu, tiacykloalkylidénovú skupinu alebo azacykloalkylidénovú skupinu), pričom každá môže byť prípadne substituovaná nižšou alkylovou skupinou alebo aryl-nižšiu alkylovú skupinu; alebo 2,2-norbonylidénovú skupinu;

X znamená skupinu -O-, -S(O)_n-, -NHSO₂- alebo -NHCO-;

n znamená 0, 1 alebo 2; a

COOR² znamená karboxylovú skupinu alebo karboxylovú skupinu derivatizovanú vo forme farmaceuticky prijateľného esteru;

disulfidových derivátov odvodených od uvedených zlúčenín, kde R³ znamená atóm vodíka; a ich farmaceuticky prijateľných solí.

Predložený vynález sa týka tiež farmaceutických kompozícií obsahujúcich uvedené zlúčeniny; spôsobov prípravy uvedených zlúčenín; medziproduktov; a spôsobov ošetrovania ochorení cicavcov, ktorí sú vnímaví proti inhibícii ACE a NEP, pomocou podávania uvedených zlúčenín cicavcom vyžadujúcim takú liečbu.

Predložený vynález tiež zahŕňa ľubovoľné profarmakové deriváty zlúčenín podľa vynálezu obsahujúce voľnú karboxylovú skupinu, sulfhydrylovú skupinu alebo hydroxyskupinu, pričom sa tieto profarmakové deriváty pomocou solvolýzy alebo za fyziologických podmienok pretvárajú do podoby zlúčenín s voľnou karboxylovou, sulfhydrylovou alebo/a hydroxyskupinou. Profarmakovými derivátmi sú napr. estery voľných karboxylových kyselín a S-acylové a O-acylové deriváty tiolov, alkoholov alebo fenolov, kde termín "acyl" nadobúda tu uvedené významy.

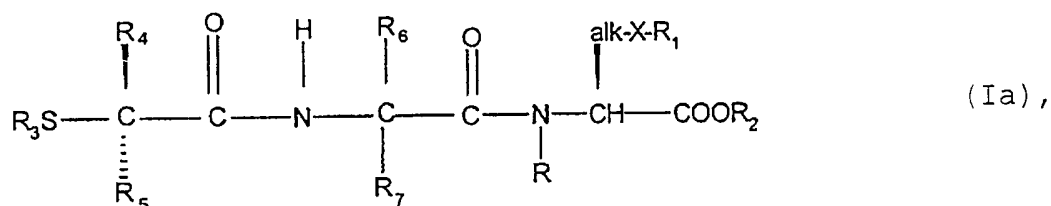
Profarmakovými esterovými derivátmi sú výhodne farmaceuticky prijateľné estery, ktoré sa pomocou solvolýzy alebo za fyziologických podmienok pretvárajú do podoby voľných karboxylových kyselín všeobecného vzorca I.

Farmaceuticky prijateľnými profarmakovými esterami sú výhodne napr. nižšie alkylestery, aryl-nižšie alkylestery, α-(nižší alkanoyloxy)-nižšie alkylestery, ako je pivaloyloxymetyler, a α-(nižší alkoxykarbonyl, morfolinokarbonyl, piperidinokarbonyl, pyrrolidinokarbonyl alebo di-nižší alkylaminokarbonyl)-nižšie alkylestery.

Farmaceuticky prijateľné soli sú pre ľubovoľnú kyslú zlúčeninu podľa vynálezu, napr. zlúčeninu, v ktorej COOR² znamená karboxylovú skupinu, soli odvodené od farmaceuticky prijateľných

zásad. Tými sú napr. soli alkalických kovov (napr. sodné, draselné soli), soli kovov alkalických zemín (napr. horečnaté, vápenaté soli), aminové soli (napr. trometamínové soli).

Zlúčeniny všeobecného vzorca I obsahujú, v závislosti od povahy substituentov, dva alebo viac asymetrických uhlíkových atómov. Výsledné diastereoméry a optické antipódy predložený vynález tiež zahŕňa. Výhodnú konfiguráciu ukazuje všeobecný vzorec Ia



v ktorom majú asymetrické atómy uhlíka nesúce substituenty $alk-X-R^1$ a R^4 typicky konfiguráciu S.

Výhodné sú zlúčeniny všeobecného vzorca I a Ia, v ktorých R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená nižšiu alkylovú skupinu, cyloalkylovú skupinu obsahujúcu 5 alebo 6 uhlíkových atómov, karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; alk znamená nižšiu alkylénovú skupinu; X znamená skupinu -O- alebo -S(O)_n, kde n znamená 0 alebo 2; R^3 znamená atóm vodíka alebo acylovú skupinu; R^4 znamená prípadne substituovanú nižšiu alkylovú skupinu, oxacykloalkylovú skupinu, oxacykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; R^5 znamená atóm vodíka; alebo R^4 a R^5 , spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú cykloalkylidénovú skupinu obsahujúcu 5 alebo 6 uhlíkových atómov; R^6 a R^7 znamenajú nižšiu alkylovú skupinu; alebo R^6 a R^7 , spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú päť- alebo šesťčlennú cykloalkylidénovú skupinu; COOR² znamená karboxylovú skupinu alebo karboxylovú skupinu derivatizovanú vo forme farmaceuticky prijateľného esteru; disulfidové deriváty

odvodené od uvedených zlúčenín, v ktorých R^3 znamená atóm vodíka; a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Ďalej sú výhodné zlúčeniny všeobecného vzorca I a Ia, v ktorých R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; R^3 znamená atóm vodíka alebo prípadne substituovanú nižšiu alkanoylovú skupinu; R^4 znamená nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, tetrahydropyranylovú skupinu alebo nižšiu alkoxy-nižšiu alkylovú skupinu obsahujúcu vždy 1 až 4 uhlíkové atómy v každej z alkylových častí; R^6 a R^7 znamenajú obidva alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 uhlíkové atómy a sú identické; X znamená skupinu -O- alebo -S-; alk znamená metylénovú skupinu; $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu, nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu, (di-nižší alkylaminokarbonyl)-nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu alebo (morfolínokarbonyl, piperidínokarbonyl alebo pyrrolidínokarbonyl)-nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Obzvlášť výhodné sú uvedené zlúčeniny všeobecného vzorca I alebo Ia, v ktorých R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená karbocyklickú arylovú skupinu alebo karbocyklickú aryl-nižšiu alkylovú skupinu, v ktorej karbocyklickú arylovú skupinu predstavuje fenylová skupina alebo fenylová skupina substituovaná jednou alebo dvoma skupinami zo súboru zahŕňajúceho hydroxyskupinu, nižšiu alkanoyloxyskupinu, nižšiu alkylovú skupinu, nižšiu alkoxyskupinu, trifluórmetylovú skupinu, trifluórmetyloxyskupinu a atómy halogénu; R^3 znamená atóm vodíka, nižšiu alkanoylovú skupinu alebo nižšiu alkanoylovú skupinu substituovanú nižšou alkoxyskupinou; R^4 znamená nižšiu alkylovú skupinu, 4-tetrahydropyranylovú skupinu alebo nižšiu alkoxy-nižšiu alkylovú skupinu obsahujúcu vždy 1 až 4 uhlíkové atómy v každej z alkylových častí; R^6 a R^7 znamenajú metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu alebo etylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; a ich farmaceuticky prijateľné soli. Jedno uskutočnenie sa

týka zlúčenín, v ktorých R^3 znamená atóm vodíka alebo nižšiu alkanoylovú skupinu.

Ďalej sú výhodné skôr uvedené zlúčeniny všeobecného vzorca I alebo Ia, v ktorých R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená fenylovú skupinu, fluórfenylovú skupinu, benzylovú skupinu alebo fluórbenzylovú skupinu; R^3 znamená atóm vodíka, nižšiu alkanoylovú skupinu alebo nižšiu alkanoylovú skupinu substituovanú nižšou alkoxy skupinou; R^4 znamená izopropylovú skupinu, terc-butylovú skupinu, 1-metoxyetylovú skupinu alebo 4-tetrahydropyranovú skupinu; R^6 a R^7 znamená metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; a ich farmaceuticky prijateľné soli. Jedno uskutočnenie sa týka zlúčenín, v ktorých R^3 znamená atóm vodíka alebo nižšiu alkanoylovú skupinu.

Výhodné konkrétne uskutočnenia sa týkajú zlúčenín všeobecného vzorca I alebo Ia, v ktorých R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená benzylovú skupinu; R^3 znamená atóm vodíka, acetylovú skupinu alebo metoxyacetylovú skupinu; R^4 znamená izopropylovú skupinu alebo terc-butylovú skupinu; R^6 a R^7 znamenajú metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo etoxykarbonylovú skupinu; alebo ich farmaceuticky prijateľné soli.

Definície samotné alebo v kombinácii, ako sú tu použité, majú v rámci predloženého vynálezu, ak nie je uvedené inak, nasledujúce významy.

Arylová skupina znamená karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu, a to buď monocyklickú alebo bicyklickú.

Monocyklická karbocyklická arylová skupina znamená prípadne substituovanú fenylovú skupinu, pričom ňou je výhodne fenylová skupina alebo fenylová skupina substituovaná jedným až tromi substituentami, ktorými sú výhodne nižšia alkylová skupina, hyd-

roxyskupina, nižšia alkoxyskupina, acyloxyskupina, atóm halogénu, kyanoskupina, trifluórmetylová skupina, trifluórmetyloxyskupina, aminoskupina, nižšia alkanoylamínoskupina, nižší alkyl-(tio, sulfinyl alebo sulfonyl)ová skupina, nižšia alkoxykarbonylová skupina, mono- alebo di-nížšia alkylkarbamoylová skupina alebo mono- alebo di-nížšia alkylamínoskupina; alebo fenylovú skupinu substituovanú nižšou alkyléndioxyskupinou.

Bicyklická karbocyklická arylová skupina znamená 1- alebo 2-naftylovú skupinu alebo 1- alebo 2-naftylovú skupinu výhodne substituovanú nižšou alkylovou skupinou, nižšou alkoxyskupinou alebo atómom halogénu.

Monocyklická heterocyklická arylová skupina znamená výhodne prípadne substituovanú tiazolylovú skupinu, pyrimidylovú skupinu, triazolylovú skupinu, tienylovú skupinu, furanylovú skupinu alebo pyridylovú skupinu.

Prípadne substituovaná furanylová skupina znamená 2- alebo 3-furanylovú skupinu alebo 2- alebo 3-furanylovú skupinu výhodne substituovanú nižšou alkylovou skupinou.

Prípadne substituovaná pyridylová skupina znamená 2-, 3- alebo 4-pyridylovú skupinu alebo 2-, 3- alebo 4-pyridylovú skupinu výhodne substituovanú nižšou alkylovou skupinou, atómom halogénu alebo kyanoskupinou.

Prípadne substituovaná tienylová skupina znamená 2- alebo 3-tienylovú skupinu alebo 2- alebo 3-tienylovú skupinu výhodne substituovanú nižšou alkylovou skupinou.

Prípadne substituovaná pyrimidylová skupina znamená napr. 2-pyrimidylovú skupinu alebo 2-pyrimidylovú skupinu substituovanú nižšou alkylovou skupinou.

Prípadne substituovaná tiazolylová skupina znamená napr. -2-tiazolylovú skupinu alebo 2-tiazolylovú skupinu substituovanú nižšou alkylovou skupinou.

Prípadne substituovaná triazolylová skupina znamená napr. 1,2,4-triazolylovú skupinu alebo 1,2,4-triazolylovú skupinu výhodne substituovanú nižšou alkylovou skupinou.

Bicyklická heterocyklická arylová skupina znamená výhodne indolylovú skupinu, benzotiazolylovú skupinu, chinolinylovú skupinu alebo izochinolinylovú skupinu prípadne substituovanú hydroxyskupinou, nižšou alkylovou skupinou, nižšou alkoxyskupinou alebo atómom halogénu, výhodne 3-indolylovú skupinu, 2-benzotiazolylovú skupinu alebo 2- alebo 4-chinolinylovú skupinu.

Arylovou skupinou v aryl-nižšej alkylovej skupine je výhodne fenylová skupina alebo fenylová skupina substituovaná jednou alebo dvoma skupinami zo súboru zahŕňajúceho nižšie alkylové skupiny, nižšie alkoxyskupiny, hydroxyskupiny, nižšie alkanoyloxyskupiny, atómy halogénu, trifluórmetylové skupiny, kyanoskupiny, nižšie alkanoylamínoskupiny alebo nižšie alkoxykarbonylové skupiny; tiež prípadne substituovaná naftylová skupina.

Aryl-nižšou alkylovou skupinou je výhodne benzylová skupina alebo 1- alebo 2-fenetylová skupina prípadne substituovaná na fenylovou kruhu jednou alebo dvoma skupinami zo súboru zahŕňajúceho nižšie alkylové skupiny, nižšie alkoxyskupiny, hydroxyskupiny, nižšie alkanoyloxyskupiny, atómy halogénu alebo trifluórmetylové skupiny.

Termín "nižší" tu uvedený v súvislosti s organickými zvyškami, respektíve zlúčeninami, označuje zvyšky, respektíve zlúčeniny s až 7 uhlíkovými atómami vrátane, výhodne až 4 uhlíkovými atómami vrátane a výhodnejšie s jedným alebo dvoma uhlíkovými atómami. Tieto zvyšky, respektíve zlúčeniny, môžu byť priame alebo rozvetvené.

Prípadne substituovaná nižšia alkylová skupina označuje nižšiu alkylovú skupinu alebo nižšiu alkylovú skupinu substituovanú napr. atómom halogénu, hydroxyskupinou, nižšou alkoxyskupinou, aminoskupinou, (mono- alebo di-nižší alkyl)aminoskupinou, acyl-

aminoskupinou, 1-nižší alkyl-piperazinoskupinou, morfolinoskupinou, piperidinoskupinou, pyrrolidinoskupinou a podobne.

Nižšia alkylénová skupina označuje priamy alebo rozvetvený uhlíkatý reťazec obsahujúci výhodne 1 až 4 uhlíkové atómy, ktorý môže byť substituovaný napr. nižšou alkoxyskupinou, napríklad skupina $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ a podobne.

Nižšia alkylová skupina výhodne obsahuje 1 až 4 uhlíkové atómy a môže byť priama alebo rozvetvená a znamená napríklad etylovú skupinu, propylovú skupinu, butylovú skupinu alebo výhodne metylovú skupinu.

Nižšia alkoxyskupina výhodne obsahuje 1 až 4 uhlíkové atómy, a môže byť priama alebo rozvetvená a znamená napríklad metoxy-skupinu, propoxyskupinu, izopropoxyskupinu alebo výhodne etoxy-skupinu.

Cykloalkylová skupina znamená nasýtený cyklický uhľovodíkový zvyšok, ktorý výhodne obsahuje 5 až 7 kruhových atómov uhlíka, výhodne cyklopentylovú skupinu alebo cyklohexylovú skupinu.

Oxacykloalkylová skupina znamená výhodne päť- až sedemčlennú oxacykloalkylovú skupinu, napr. tetrahydropyranylovú skupinu, ako 4-tetrahydropyranylovú skupinu.

Tiacykloalkylová skupina znamená výhodne päť- až sedemčlennú tiacykloalkylovú skupinu, napr. tetrahydrotiopyranylovú skupinu, ako 4-tetrahydrotiopyranylovú skupinu.

Azacykloalkylová skupina znamená výhodne päť- až sedemčlennú azacykloalkylovú skupinu, napr. pyrrolidinylovú skupinu alebo piperidinylovú skupinu, v ktorej môže byť atóm dusíka substituovaný nižšou alkylovou skupinou alebo aryl-nižšou alkylovou skupinou.

Termín "cykloalkyl-nižšia alkylová skupina" znamená výhodne (cyklopentyl alebo cyklohexyl)metylovú skupinu, 1- alebo 2-(cyk-

lopentyl alebo cyklohexyl)etylovú skupinu, 1-, 2- alebo 3-(cyklo-lopentyl alebo cyklohexyl)propylovú skupinu alebo 1-, 2-, 3- alebo 4-(cyklo-lopentyl alebo cyklohexyl)butylovú skupinu. Podobne (oxacyklyl, tiacykloalkyl alebo azacykloalkyl)-nižšia alkylová skupina.

Nižšia alkoxykarbonylová skupina výhodne obsahuje 1 až 4 uhlíkové atómy v alkoxyčasti a znamená napríklad metoxykarbonylovú skupinu, propoxykarbonylovú skupinu, izopropoxykarbonylovú skupinu alebo výhodne etoxykarbonylovú skupinu.

Cykloalkylidénová skupina je troj- až desaťčlenná, výhodne päť- alebo šesťčlenná, a znamená cykloalkánovú väzbovú skupinu, v ktorej sú dve naviazané skupiny viazané k rovnakému atómu uhlíka cykloalkánového kruhu.

Päť- alebo šesťčlenná oxacykloalkylidénová skupina znamená tetrahydrofuránovú alebo tetrahydropyránovú väzbovú skupinu, to znamená tetrahydrofuranylidénovú skupinu alebo tetrahydropyranylidénovú skupinu, v ktorej sú dve naviazané skupiny viazané k rovnakému atómu uhlíka príslušného kruhu, napr. v jeho polohe 3- alebo 4-.

Päť- alebo šesťčlenná tiacykloalkylidénová skupina znamená tetrahydrotiofénovú alebo tetrahydrotiopyránovú väzbovú skupinu, v ktorej sú dve naviazané skupiny viazané k rovnakému atómu uhlíka príslušného kruhu, napr. v jeho polohe 3- alebo 4-.

Päť- alebo šesťčlenná azacykloalkylidénová skupina znamená pyrolidínovú alebo piperidínovú väzbovú skupinu, v ktorej sú dve naviazané skupiny viazané k rovnakému atómu uhlíka príslušného kruhu, napr. v jeho polohe 3- alebo 4-, a atóm dusíka môže byť substituovaný nižšou alkylovou skupinou, napr. metylovou skupinou, alebo aryl-nižšou alkylovou skupinou, napr. benzylovou skupinou.

Benzo-kondenzovaná cykloalkylidénová skupina znamená napr.

1,1- alebo 2,2-tetralinylidénovú skupinu alebo 1,1- alebo 2,2-indanylidénovú skupinu.

Atóm halogénu (haloskupina) výhodne znamená atóm fluóru alebo chlóru, avšak môže ním byť tiež atóm brómu alebo jódu.

Acylová skupina je odvodená od karboxylovej kyseliny a znamená výhodne prípadne substituovanú nižšiu alkanoylovú skupinu, karbocyklickú aryl-nižšiu alkanoylovú skupinu, aroylovú skupinu, nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu alebo aryl-nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu, výhodne prípadne substituovanú nižšiu alkanoylovú skupinu alebo aroylovú skupinu.

Nižšou alkanoylovou skupinou je výhodne acetylová skupina, propionylová skupina, butyrylová skupina alebo pivaloylová skupina.

Prípadne substituovaná nižšia alkanoylová skupina napríklad znamená nižšiu alkanoylovú skupinu alebo nižšiu alkanoylovú skupinu substituovanú napr. nižšou alkoxykarbonylovou skupinou, nižšou alkanoyloxyskupinou, nižšou alkanoyltioskupinou, nižšou alkoxyskupinou, nižšou alkyltioskupinou, hydroxyskupinou, di-nižšou alkylaminoskupinou, nižšou alkanoylaminoskupinou, morfolinoskupinou, piperidinoskupinou, pyrrolidinoskupinou, 1-nižšou alkylpiperazinoskupinou, aroylovou skupinou alebo heteroaroylovou skupinou.

Aroylová skupina je karbocyklická alebo heterocyklická aroylová skupina, výhodne monocyklická karbocyklická alebo monocyklická heterocyklická aroylová skupina.

Monocyklickou karbocyklickou aroylovou skupinou je výhodne benzoylová skupina alebo benzoylová skupina substituovaná nižšou alkyllovou skupinou, nižšou alkoxyskupinou, atómom halogénu alebo trifluórmetylovou skupinou.

Monocyklickou heterocyklickou aroylovou skupinou je výhodne pyridylkarbonylová skupina alebo tienylkarbonylová skupina.

Acyloxyskupinou je výhodne prípadne substituovaná nižšia alkanoyloxyskupina, nižšia alkoxykarbonyloxyskupina, monocyklická karbocyklická aroyloxyskupina alebo monocyklická heterocyklická aroyloxyskupina.

Aryl-nižšou alkoxykarbonylovou skupinou je výhodne monocyklická karbocyklická aryl-nižšia alkoxykarbonylová skupina, výhodne benzyloxycarbonylová skupina.

Biarylová skupina znamená monokarbocyklickú arylovú skupinu substituovanú monocyklickou karbocyklickou alebo monocyklickou heterocyklickou arylovou skupinou, a výhodne znamená bifenylylovú skupinu, výhodnejšie 4-bifenylylovú skupinu prípadne substituovanú na jednom alebo oboch benzénových kruhoch nižšou alkylovou skupinou, nižšou alkoxyskupinou, atómom halogénu alebo trifluórmetylovou skupinou.

Biaryl-nižšou alkylovou skupinou je výhodne 4-bifenylyl-nižšia alkylová skupina, výhodnejšie 4-bifenylylmetylová skupina.

Nové zlúčeniny podľa vynálezu sú ACE inhibítory inhibujúce konverziu angiotenzínu I na presorickú látku angiotenzín II, a tak znižujú krvný tlak u cicavcov. Zlúčeniny podľa vynálezu ďalej vykazujú inhibíciu NEP, a tak zosilňujú kardiovaskulárne (napr. diuretické a natriuretické) účinky atriálnych natriuretických faktorov (ANF). Kombinovaný účinok je prospešný na liečenie kardiovaskulárnych ochorení u cicavcov, najmä hypertenzia, srdcové stavy, ako je kongestívne srdcové zlyhanie, a zlyhanie obličiek. Ďalším priaznivým účinkom zlúčenín podľa vynálezu je pri liečení uvedených kardiovaskulárnych ochorení inhibícia ECE.

Skôr uvedené vlastnosti je možné preukázať v rámci *in vitro* a *in vivo* testov, výhodne za použitia cicavcov, napr. myši, krýs, psov, opíc, alebo izolovaných orgánov, tkanív a ich preparátov. Uvedené zlúčeniny je možné aplikovať *in vitro* napr. vo forme roztokov, výhodne napr. vodných roztokov, a *in vivo* buď enterálne, parenterálne, výhodne orálne (p.o.) alebo intrave-

nózne (i.v.), napr. ako suspenziu alebo vo vodnom roztoku. Dávky *in vitro* sa môžu pohybovať v rozsahu molárnych koncentrácií asi 10^{-6} mol a 10^{-9} mol. Dávky *in vivo* sa môžu pohybovať, v závislosti od spôsobu podávania, v rozsahu asi 0,01 a 50 mg/kg, výhodne asi 0,1 a 25 mg/kg.

In vitro testovanie je najvhodnejšie pre voľné karboxylové kyseliny podľa vynálezu. Testovaná zlúčenina sa rozpustí v dimetylsulfoxide, etanole alebo 0,25 M roztoku hydrogenuhličitanu sodného a roztok sa zriedi pufrom na požadovanú koncentráciu.

In vitro inhibíciu ACE zlúčeninami podľa predloženého vynálezu je možné preukázať spôsobom analogickým k spôsobu opísanému v Biochem. Pharmacol., zv. 20, str. 1637 (1971). Pufrom pre ACE analýzu je 300 mmol NaCl, 100 mmol KH_2PO_4 (pH 8,3). Reakcia sa vyvolá pridaním 100 μl hippuryl-histidyl-leucínu (2 mg/ml) do skúmaviek obsahujúcich enzým a liečivo v objeme 150 μl a skúmavky sa inkubujú počas 30 minút pri teplote 37°C . Reakcia sa ukončí pridaním 0,75 ml 0,6 N NaOH. Do skúmaviek sa pridá 100 μl čerstvo pripraveného roztoku O-ptaldehydu (2 mg/ml v metanole), obsah sa zmieša a nechá stáť pri izbovej teplote. Po 10 minútach sa pridá 100 μl 6 N HCl. Skúmavky sa odstredia a odčíta sa optická denzita supernatantu pri 360 nm. Výsledky sa vynesú proti koncentrácii liečiva na stanovenie hodnoty IC_{50} , to znamená koncentrácia liečiva, ktorá vykazuje polovicu aktivity kontrolnej vzorky neobsahujúcej liečivo.

Zlúčeniny podľa vynálezu typicky vykazujú hodnotu IC_{50} pre inhibíciu ACE pohybujúcu sa v rozsahu asi 0,1 až 50 nmol.

Príkladná zlúčenina podľa vynálezu, to znamená zlúčenina z príkladu 6(a) vykazuje v rámci ACE *in vitro* analýzy hodnotu IC_{50} vo výške asi 20 nmol.

Inhibíciu ACE je možné preukázať *in vivo* pri p.o. alebo i.v. podávaní meraním inhibície presorickej odozvy vyvolanej angio-

tenzínom I u normotenzívnej myši.

In vivo test pre i.v. podávané zlúčeniny sa uskutočňuje so samčiami, normotenzívnymi krysami, ktoré sú pri vedomí. Femorálne artérie, respektíve femorálne vény, sa kanylujú pre priame meranie tlaku po i.v. podávaní angiotenzínu I a i.v. alebo p.o. podávaní zlúčeniny podľa predloženého vynálezu. Po stabilizácii bazálneho krvného tlaku sa získavajú presorické odozvy na 3 alebo 4 expozície 300 ng/kg angiotenzínu I i.v. v pätnásťminútových intervaloch. Tieto tlakové odozvy sa obvykle znova získavajú v 15., 30., 60. a 90. minúte a potom každú hodinu až do 6 hodín po i.v. alebo p.o. podaní testovanej zlúčeniny, a porovnávajú sa s počiatočnými odozvami. Akékoľvek pozorované zníženie uvedenej presorickej odozvy je znakom ACE inhibície.

Príkladná zlúčenina podľa vynálezu, to znamená zlúčenina z príkladu 6(a), inhibuje v dávke 10 mg/kg i.v. presorickú odozvu vyvolanú angiotenzínom I počas 3 hodín. Podobne zlúčenina z príkladu 1(a) inhibuje v dávke 11,8 mg/kg p.o. presorickú odozvu vyvolanú angiotenzínom I počas 6 hodín.

In vitro inhibíciu NEP (EC 3.4.24.11) je možné preukázať nasledovne:

NEP 3.4.24.11 aktivita sa stanovuje pomocou hydrolýzy substrátu glutaryl-Ala-Ala-Phe-2-naftylamidu (GAAP) za použitia modifikovanej procedúry Orlowského a Wilka (1981). Inkubačná zmes (celkový objem 125 μ l) obsahuje 4,2 μ l proteínu (membrány kôry obličiek krýs pripravené spôsobom podľa Maeda a kol., 1983), 50 mmol tris pufra, pH 7,4 pri 25°C, 500 μ mol substrátu (finálna koncentrácia) a leucínaminopeptidázu M (2,5 μ g). Zmes sa inkubuje počas 10 minút pri 25°C, a pridá sa 100 μ l farbiva fast garnet (250 μ g farbiva fast garnet/ml 10% Tween 20 v 1 M natriumacetátu, pH 4,2). Enzymová aktivita sa stanovuje spektrofotometricky pri 540 nm. Jedna jednotka NEP 24.11 aktivity sa definuje ako 1 nmol 2-naftylamínu uvoľnený za minútu pri 25°C

a pH 7,4. Stanovia sa hodnoty IC_{50} , to znamená koncentrácia testovanej zlúčeniny potrebná k 50% inhibícii uvoľňovania 2-naftylamínu.

NEP aktivitu je možné stanovovať tiež pomocou ANF ako substrátu. ANF degradujúca aktivita sa stanovuje meraním úbytku krysiho ANF (r-ANF) za použitia trojminútovej HPLC separácie s reverznou fázou. Alikvot enzýmu v 50 mmol tris HCl pufra, pH 7,4, sa predinkubuje pri 37°C počas 2 minút a vyvolá sa reakcia pridaním 4 nmol r-ANF v celkovom objeme 50 μ l. Reakcia sa ukončí po 4 minútach pridaním 30 μ l 0,27% kyseliny trifluóroctovej (TFA). Jedna jednotka aktivity sa definuje ako hydrolýzy 1 nmol r-ANF za minútu pri 37°C a pH 7,4. Stanovia sa hodnoty IC_{50} , to znamená koncentrácie testovanej zlúčeniny potrebné na 50% inhibíciu hydrolýzy ANF.

Zlúčeniny podľa vynálezu typicky vykazujú pre inhibíciu NEP hodnotu IC_{50} pohybujúcu sa v rozsahu asi 0,1 až 50 nmol.

Príkladná zlúčenina podľa vynálezu, to znamená zlúčenina z príkladu 6(a), vykazuje v rámci GAAP *in vitro* analýzy hodnotu IC_{50} vo výške asi 5 nmol.

Účinok zlúčenín podľa vynálezu na krysiu plazmatickú koncentráciu ANF je možné stanoviť nasledovne:

Samčie krysy Sprague-Dawley (275 až 390 g) sa anestetizujú ketamínom (150 mg/kg)/acepromazínom (10%) a vybavujú sa katétami vo femorálnej artérii a véne na získanie krvných vzoriek, respektíve na infúziu ANF. Krysy sa upevnia pomocou upevňovacieho systému a nechajú sa nadobudnúť vedomie 24 hodín predtým, ako sa podrobia testu v bdelom a neobmedzenom stave.

V rámci analýzy sa stanovujú plazmatické hladiny ANF v prítomnosti a v neprítomnosti inhibície NEP. V deň štúdie sa všetkým krysám aplikuje kontinuálna infúzia ANF 450 ng/kg/min. i.v. počas celých 5 hodín pokusu. Šesťdesiat minút po začiatku infú-

zie sa získajú krvné vzorky pre bazálne ANF meranie (čas 0) a krysy sa potom náhodne rozdelia do skupín ošetrovaných testovanou zlúčeninou alebo vehikulom. Ďalšie krvné vzorky sa odoberajú 30, 60, 120, 180 a 240 minút po podaní testovanej zlúčeniny.

Plazmatické koncentrácie ANF sa stanovujú pomocou špecifickej radioimunoanalýzy. Plasma sa zriedi (x12,5, x25 a x50) v pufrí obsahujúcom: 50 mmol tris (pH 6,8), 154 mmol NaCl, 0,3% albumínu bovinného séra, 0,01% EDTA. Sto mikrolitrov štandardov [rANF (99-126)] alebo vzoriek sa pridá k 100 μ l králičieho anti-rANF séra a inkubuje sa pri 4°C počas 16 hodín. Potom sa k reakčnej zmesi pridá desať tisíc cpm [125 I]rANF a tá sa inkubuje pri 4°C počas 16 hodín. Potom sa k reakčnej zmesi pridá desať tisíc cpm [125 I]rANF a tá sa inkubuje pri 4°C počas 24 hodín. K reakčnej zmesi sa pridá kozie anti-králičie IgG sérum viazané na paramagnetických časticiach a naviazaný [125 I]rANF sa peletuje expozíciou zmesi priťahujúcej magnetickej mreže. Supernatant sa dekantuje a pelety sa počítajú v γ čítači. Všetky merania sa uskutočnia dvakrát. Plazmatické hladiny ANF sa vyjadria ako percento hladín nameraných u zvierat ošetrovaných vehikulom, ktoré užívali samotný ANF (450 ng/kg/min. i.v.).

Príkladná zlúčenina podľa vynálezu, to znamená zlúčenina z príkladu 1(a), zvyšuje v dávke 11,8 mg/kg p.o. plazmatické hladiny ANF asi o 70%.

Anti-hypertenzívnu aktivitu je možné preukázať napr. u spontánne hypertenzívnej krysy (SHR) a DOCA-sol hypertenzívnej myši, napr. podľa Bazil a kol., J. Cardiovasc. Pharmacol., zv. 22, str. 897 až 905 (1993), respektíve Trapani a kol., J. Cardiovasc. Pharmacol., zv. 14, str. 419 až 424 (1989).

Príkladná zlúčenina podľa vynálezu, to znamená zlúčenina z príkladu 1(a), znižuje u SHR pri vedomí pri podávaní dávky 11,8 mg/kg p.o. raz denne stredný arteriálny tlak.

Anti-hypertenziívny účinok je možné u deoxykortikosterónacetát (DOCA)-soľ hypertenziívnej krysy preukázať nasledovne:

DOCA-soľ hypertenziívnej krysy (280 až 380 g) sa pripraví štandardným spôsobom. Krysy podstúpia unilaterálnu nefrektómiu a o jeden týždeň neskôr sa im implantujú silastické pelety obsahujúce 100 mg/kg DOCA. Krysy sa chovajú na pitnej vode s 1% NaCl/0,2% KCl počas troch až piatich týždňov, pokiaľ nenastane trvalá hypertenzia. Anti-hypertenziívna aktivita sa hodnotí v tomto čase.

Dva dni pred experimentom sa krysy anestetizujú metoxyfluránom a vybaví sa katétami vo femorálnej artérii na meranie arteriálneho krvného tlaku. O štyridsaťosem hodín neskôr sa v priebehu jednej hodiny zaznamená bazálny arteriálny tlak a srdcová frekvencia. Potom sa podá testovaná zlúčenina alebo vehikulum a rovnaké kardiovaskulárne parametre sa sledujú počas ďalších 5 hodín.

Diuretickú (saluretickú) aktivitu je možné stanovovať pomocou štandardných diuretických testov, napr. tak, ako je opísané v "New Anti-hypertensive Drugs", Spectrum Publications, str. 307 až 321 (1976), alebo meraním zosilnenia natriurézy a diurézy vyvolanej ANF u krysy.

Zosilnenie natriuretického účinku ANF je možné zisťovať nasledovne:

Samčie krysy Sprague-Dawley rats (280 až 360 g) sa anestetizujú Inactinom (100 mg/kg i.p.) a vybaví sa katétami vo femorálnej artérii, femorálnej véne a močovom mechúri na meranie arteriálneho tlaku, podávanie ANF, respektíve zhromažďovanie moču. Na podporu diurézy a vylučovania sodíka sa v priebehu experimentu udržiava infúzia normálnej solanky (33 μ l/min). Experimentálny protokol pozostáva z počiatočného pätnásťminútového zberného obdobia (označovaného ako prekontrolné) nasledovaného tromi ďalšími zbernými obdobiami. Bezprostredne po dokončení prekon-

trolného obdobia sa podáva testovaná zlúčenina alebo vehikulum; nasledujúcich 45 minút sa nič nerobí. Potom sa v priebehu druhého zberného obdobia (označovaného ako kontrolné, 15 minút) uskutočňujú merania krvného tlaku a renálne merania. Na záver tohto obdobia sa všetkým zvieratám podáva ANF (bolus 1 µg/kg i.v.) a v priebehu dvoch po sebe idúcich pätnásťminútových zberných období sa stanovuje arteriálny tlak a renálne parametre. Pre všetky odberné obdobia sa zisťuje stredný arteriálny tlak, prietok moču a vylučovanie sodíka močom. Krvný tlak sa meria pomocou snímača tlaku Gould p50, prietok moču sa stanovuje gravimetricky, koncentrácia sodíka sa meria pomocou spaľovacej fotometrie a vylučovanie sodíka močom sa vypočíta ako súčin prietoku moču a koncentrácie sodíka v moči.

Inhibíciu ECE *in vitro* je možné stanovovať nasledovne:

ECE sa čiastočne vyčistí z primárnych endotelových buniek aorty ošípaných pomocou stĺpcovej chromatografie s DE52 anióno-vou výmenou a pomocou radioimunoanalýzy (RIA), ako je opísané v Anal. Biochem., zv. 212, str. 434 až 436 (1993), sa kvantifikuje jeho aktivita. Alternatívne je možné prirodzený enzým nahradit' rekombinantnou formou ECE, ako je opísané napríklad v Cell, zv. 78, str. 473 až 485 (1994). Ľudský ECE-1 sa opísal niekoľkými skupinami (Schmidt a kol., FEES Letters, zv. 356, str. 238-243 (1994); Kaw a kol., 4th Int. Conf. on Endothelin; 23. až 25. apríla, Londýn (UK) (1995) C6; Valdenaire a kol., J. Biol. Chem., zv. 270, str. 29794 až 29798 (1995); Shimada a kol., Biochem. Biophys. Res. Commun., zv. 207, str. 807 až 812 (1995). Inhibíciu ECE je možné stanoviť spôsobom opísaným v Biochem. Mol. Biol. Int., zv. 31, č. 5, str. 861 až 867 (1993), pomocou RIA na stanovenie ET-1 vytvoreného z veľkého ET-1.

Alternatívne je možné použiť rekombinantný ľudský ECE-1 (rhECE-1), a to nasledovne:

Ovariálne bunky čínskeho škrečka exprimujúce rhECE-1 (Kaw

a kol., 4th Int. Conf. on Endothelin; 23. až 25. apríl, Londýn (UK), (1995) C6) sa kultivujú v médiu DMEM/F12 obsahujúcom 10% fetálneho bovinného séra a 1x antibiotikum-antimykotikum. Bunky sa odoberajú sterom, peletujú odstredovaním a homogenizujú pri 4°C v pufri obsahujúcom 5 mmol MgCl₂, 1 µmol pepstatínu A, 100 µmol leupeptínu, 1 mmol PMSF a 20 mmol Tris, pH 7,0, v pomere 2 ml pufra/ml buniek. Bunková drť sa odstráni krátkym odstredovaním a supernatant sa znova odstredí pri 100 000 x g počas 30 minút. Výsledná peleta sa znova suspenduje v pufri obsahujúcom 200 mmol NaCl a 50 mmol Tes, pH 7,0, za koncentrácie proteínu asi 15 mg/ml a uchováva sa v podobe alikvot pri -80°C.

Na zhodnotenie účinku inhibítora na aktivitu ECE-1 sa 10 µg proteínu predinkubuje so zlúčeninou v požadovanej koncentrácii počas 20 minút pri izbovej teplote v 50 mmol TES, pH 7,0 a 0,005% Triton X-100 v objeme 10 µl. Potom sa pridá ľudský veľký ET-1 (5 µl) do výslednej koncentrácie 0,2 µmol a reakčná zmes sa ďalej inkubuje počas 2 hodín pri 37°C. Reakcia sa ukončí pridaním 500 µl RIA pufra obsahujúceho 0,1% Triton X-100, 0,2% albumínu bovinného séra a 0,02% NaN₃ vo fosfátom pufrovanej soľanke.

Zriedené vzorky (200 µl) získané zo skôr uvedenej enzýmovej analýzy sa inkubujú pri 4°C cez noc s 25 µl [¹²⁵I]ET-1 (10 000 cpm/skúmavka) a 25 µl 1:20 000 zriedených králičích protilátok, ktoré špecificky rozpoznávajú karboxylovú skupinu terminálneho tryptofánu ET-1. Potom sa do každej skúmavky pridajú kozie anti-králičie protilátky naviazané na magnetické guľôčky (70 µg) a reakčná zmes sa ďalej inkubuje 30 minút pri izbovej teplote. Guľôčky sa peletujú za použitia magnetickej mreže. Supernatant sa dekantuje a počíta sa radioaktivita v pelete pomocou γ čítača. Meria sa celková a nešpecifická väzba v neprítomnosti neradioaktívneho ET-1 a protilátok anti-ET. Za týchto podmienok vytesňujú ET-1 a veľký ET-1 väzbu [¹²⁵I]ET-1 na protilátky s hodnotou IC₅₀ predstavujúcou 21 ± 2, respektíve

260 000 $\pm$ 66 000 fmol (stredná hodnota $\pm$ SEM (štandardná chyba merania), n = 3 až 5).

S cieľom stanoviť hodnoty IC₅₀ inhibítora sa u každého inhibítora zisťuje krivka koncentrácia-odozva. Na úpravu dát na jednostranný model sa použije IBM-kompatibilná verzia programu ALLFIT.

Inhibíciu ECE je možné stanovovať *in vivo* tiež meraním inhibície presorickej odpovede vyvolanej veľkým ET-1 u anestézovanej krysy alebo krysy pri vedomí, ako je opísané ďalej. Účinnosť inhibítorov na presorickú odozvu, ktorá je výsledkom expozície veľkému ET-1, sa meria u krýs Sprague-Dawley spôsobom opísaným v Biochem. Mol. Biol. Int., zv. 31, č. 5, str. 861 až 867 (1993). Výsledky sa vyjadrujú ako percento inhibície presorickej odozvy vyvolanej veľkým ET-1 v porovnaní s vehikulom.

Samčie krysy Sprague-Dawley sa anestetizujú Inactínom (100 mg/kg i.p.) a vybaví sa katétami vo femorálnej artérii a véne na zaznamenávanie stredného arteriálneho tlaku (MAP), respektíve podávanie zlúčenín. Uskutoční sa tracheostómia a do trachey sa vloží kanyla na zabezpečenie priechodnosti dýchacích ciest. Telesná teplota zvierat sa udržiava na 37 $\pm$ 1°C pomocou vyhrievacej prikrývky. Po chirurgickom zákroku sa nechá stabilizovať MAP predtým, ako sa preruší autonómna neurotransmisia chlorisondamínom (3 mg/kg i.v.). Potom sa krysy ošetrojú testovanou zlúčeninou v dávke 10 mg/kg i.v. alebo vehikulom a o 15 a 90 minút neskôr sa vystavia veľkému ET-1 (1 nmol/kg i.v.). Dáta sa všeobecne udávajú ako maximálny vzostup MAP vyvolaný veľkým ET-1 u zvierat ošetrovaných testovanou zlúčeninou alebo vehikulom.

Samčie krysy Sprague-Dawley sa anestetizujú metohexitalom sodným (75 mg/kg i.p.) a vybaví sa katétami vo femorálnej artérii a véne na meranie MAP, respektíve podávanie liečiv. Katétre sa prevlečú cez otočný systém, ktorý krysám umožňuje po

opätovnom nadobudnutí vedomia voľný pohyb. Krysy sa pred začatím štúdie nechajú 24 hodín zotaviť z tejto procedúry. Nasledujúci deň sa zaznamenáva MAP pomocou katétra vo femorálnej artérii a prostredníctvom femorálnej žily sa podáva testovaná zlúčenina alebo vehikulum. Zvieratá sa v rôznych okamihoch po podaní vystavia veľkému ET-1 v dávke 1 nmol/kg i.v.. Po príslušnom vyplachovacom čase závisiacom od dávky a režimu, je možné zvieratá testovať s inou dávkou testovanej zlúčeniny alebo vehikula. Dáta sa všeobecne uvádzajú ako zmena MAP vyvolaná veľkým ET-1 v dvojminútových intervaloch u zvierat ošetrovaných testovanou zlúčeninou v porovnaní s vehikulom.

Inhibíciu ECE je možné *in vivo* stanoviť tiež meraním inhibície presorickej odozvy vyvolanej veľkým ET-1 u SHR pri vedomí, napr. spôsobom opísaným v Biochem. Biophys. Res. Commun., zv. 204, str. 407 až 412 (1994).

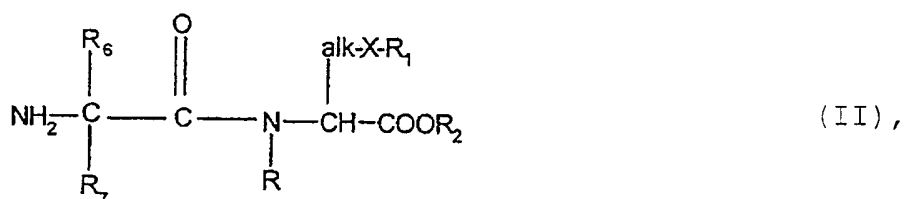
Samčím SHR (vo veku 16 až 18 týždňov) sa podáva buď testovaná zlúčenina alebo vehikulum (1M NaHCO₃) pomocou podkožne implantovanej osmotickej minipumpy. V deň 5 sa anestézované krysy vybavujú katétrami vo femorálnej artérii a véne na meranie MAP, respektíve podávanie testovanej zlúčeniny. Po štyridsaťosem hodinovom zotavovacom čase sa prostredníctvom arteriálneho katétra pripojeného k snímaču tlaku zaznamenáva MAP (deň 7). 30 minút pred gangliovou blokádou uskutočnenou pomocou chlorisondamínu (10 mg/kg i.v.) sa nechá stabilizovať krvný tlak a srdcová frekvencia. Asi o 15 minút neskôr sa podá bolus veľkého ET-1 (0,25 nmol/kg i.v.), a to ako krysám ošetrovaným vehikulom, tak krysám ošetrovaným testovanou zlúčeninou. Medzi dvoma skupinami kryš sa potom porovnáva zmena krvného tlaku pri odpovedi na veľký ET-1.

Inhibícia cerebrálneho vazospazmu sa preukazuje pomocou merania inhibície experimentálne vyvolanej konstriktie bazilárnych cerebrálnych artérií u králika (Caner a kol., J. Neurosurg., zv. 85, str. 917 až 922 (1996)).

Stupeň alebo neprítomnosť nežiaduceho imunostimulačného potenciálu zlúčenín podľa vynálezu je možné stanovovať pomocou analýzy s murínnou popliteálnou lymfatickou uzlinou, opísané v Toxicology Letters, zv. 112/113, str. 453 až 459 (2000).

Zlúčeniny podľa vynálezu je možné napr. pripravovať

a) kondenzáciou zlúčeniny všeobecného vzorca II



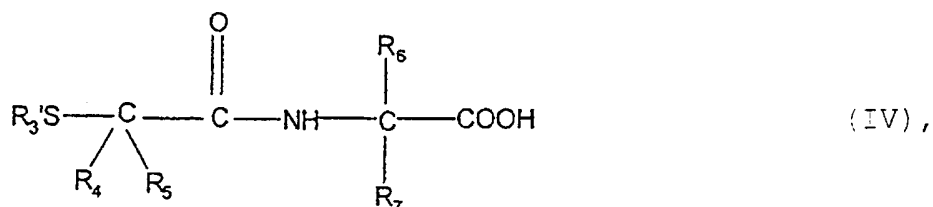
v ktorom symboly alk, X, R, R¹, R⁶ a R⁷ nadobúdajú významy uvedené skôr a COOR² predstavuje esterifikovanú karboxylovú skupinu,

s karboxylovou kyselinou všeobecného vzorca III



alebo s jej reaktívnym funkčným derivátom, kde R⁴ a R⁵ nadobúdajú významy uvedené skôr; R^{3'} znamená atóm vodíka alebo labilnú S-ochrannú skupinu, napr. acylovú skupinu, terc-butylovú skupinu alebo prípadne substituovanú benzylovú skupinu; alebo

b) kondenzáciou zlúčeniny všeobecného vzorca IV



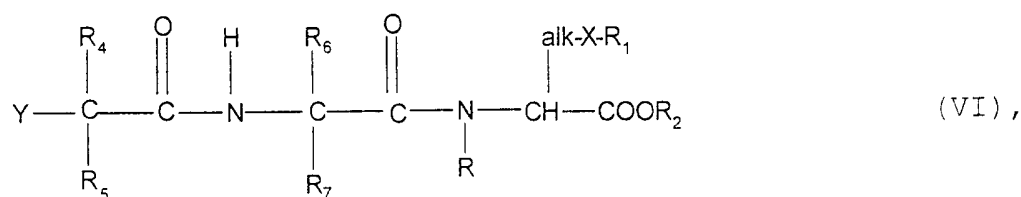
alebo jej reaktívneho funkčného derivátu, kde symboly R^{3'}, R⁴ až R⁵ a R⁶ až R⁷ nadobúdajú významy definované skôr,

s esterom aminokyseliny všeobecného vzorca V



v ktorom alk, X, R a R^1 nadobúdajú významy definované skôr a COOR^2 predstavuje esterifikovanú karboxylovú skupinu; alebo

c) kondenzáciou za zásaditých podmienok zlúčeniny všeobecného vzorca VI



v ktorom symboly R, R^1 , COOR^2 , R^4 až R^7 , alk a X nadobúdajú významy definované skôr a Y predstavuje reaktívnu esterifikovanú hydroxylovú skupinu (napr. chloroskupinu alebo bromoskupinu) ako odstupujúcu skupinu,

so zlúčeninou všeobecného vzorca VII



alebo jej soľou, kde R^3 znamená labilnú S-ochrannú skupinu, napr. acylovú skupinu, terc-butylovú skupinu alebo prípadne substituovanú benzylovú skupinu; a konverziou výsledného produktu na zlúčeninu všeobecného vzorca I, kde R^3 znamená atóm vodíka;

a, ak sa v skôr uvedenom procese dočasne chráni akákoľvek rušivo reaktívna skupina, odstráni sa uvedená(é) ochranná skupina(y) a potom sa izoluje výsledná zlúčenina podľa vynálezu; a, ak je to žiaduce, prevedie sa ľubovoľná výsledná zlúčenina podľa vynálezu na inú zlúčeninu podľa vynálezu; alebo/a, ak je to žiaduce, prevedie sa voľná funkčná skupina karboxylovej kyseliny na farmaceuticky prijateľný esterový derivát, alebo sa výsledný ester

previedie na voľnú kyselinu alebo na iný esterový derivát; alebo/a, ak je to žiaduce, previedie sa výsledná voľná zlúčenina na soľ alebo sa výsledná soľ previedie na voľnú zlúčeninu alebo inú soľ; alebo/a, ak je to žiaduce, separuje sa zmes izomérov alebo racemátov; alebo/a, ak je to žiaduce, rozdelí sa získaný racemát na optické antipódy.

Vo východiskových materiáloch a medziproduktoch používaných pri príprave zlúčenín podľa vynálezu spôsobom tu opísaným sa prítomné funkčné skupiny, ako sú tiolová skupina, karboxylová skupina, aminoskupina a hydroxyskupina, prípadne chránia bežnými ochrannými skupinami, ktoré sú v preparatívnej organickej chémii obvyklé. Chránenými tiolovými skupinami, karboxylovými skupinami, aminoskupinami a hydroxyskupinami sú skupiny, ktoré je možné za miernych podmienok previesť na voľné tiolové skupiny, karboxylové skupiny, aminoskupiny a hydroxyskupiny, bez uskutočňovania ďalších nežiaducich vedľajších reakcií.

Cieľom zavádzať ochranné skupiny je ochrana funkčných skupín pred nežiaducimi reakciami s reakčnými zložkami a za podmienok používaných na uskutočňovanie požadovanej chemickej transformácie. Potreby a voľba ochranných skupín sú odborníkovi v odbore pre konkrétnu reakciu známe, a závisia od povahy chránenej funkčnej skupiny (tiolovej skupiny, karboxylovej skupiny, aminoskupiny, atď.), štruktúry a stability molekuly, ktorej je substituent súčasťou a reakčných podmienok.

Dobre známe ochranné skupiny, ktoré spĺňajú tieto podmienky, a ich zavedenie a odstránenie je opísané napríklad v J.F.W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London, N.Y. (1973), T.W. Greene a P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, N.Y., 3. vydanie (1999), a tiež v "The Peptides", zv. I, Schroeder a Luebke, Academic Press, London, N.Y. (1965).

Príprava zlúčenín podľa vynálezu spôsobom (a), zahŕňajúca kondenzáciu amínu všeobecného vzorca II s kyselinou všeobecného

vzorca III alebo jej funkčným derivátom, sa uskutočňuje dobre známym spôsobom pre syntézu peptidov.

Kondenzácia aminoesteru všeobecného vzorca II s voľnou karboxylovou kyselinou všeobecného vzorca III podľa spôsobu (a) sa uskutočňuje výhodne v prítomnosti kondenzačného činidla, ako je dicyklohexylkarbodiimid alebo N-(3-dimetylamino)propyl-N'-etylkarbodiimid, a hydroxybenzotriazolu, 1-hydroxy-7-azabenzotriazolu, chlórdimetoxytriazínu, benzotriazol-1-yloxytris(dimetylamino)fosfóniumhexafluórfosfátu (BOP reagents) alebo O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametylmuróniumhexafluórfosfátu (HATU), a trietylamínu alebo N-metylmorfolínu, v inertnom polárnom rozpúšťadle, ako je dimetylformamid alebo metylénchlorid, výhodne pri izbovej teplote.

Kondenzácia aminoesteru všeobecného vzorca II s reaktívnym funkčným derivátom kyseliny všeobecného vzorca III vo forme halogenidu kyseliny, výhodne chloridu kyseliny, alebo zmesového anhydridu, sa uskutočňuje v inertnom rozpúšťadle, ako je toluén alebo metylénchlorid, výhodne v prítomnosti zásady, napr. anorganickej zásady, ako je uhličitan draselný, alebo organickej zásady, ako je trietylamín, N-metylmorfolín alebo pyridín, výhodne pri izbovej teplote.

Reaktívnymi funkčnými derivátmi karboxylových kyselín všeobecného vzorca III sú výhodne halogenidy kyselín (napr. chlorid kyseliny) a zmesové anhydridy, ako je pivaloyl- alebo isobutyl-oxykarbonylanhydrid, alebo aktivované estery, ako je benzotriazol-, 7-azabenzotriazol- alebo hexafluórfenylester.

Východiskovú látku všeobecného vzorca II je možné pripraviť pomocou tu opísaných a v príkladoch ilustrovaných spôsobov.

Priprava východiskovej látky všeobecného vzorca II zahŕňa acyláciu esteru všeobecného vzorca VIII



v ktorom alk, X, R a R¹ nadobúdajú významy definované skôr a COOR² predstavuje esterifikovanú karboxylovú skupinu (napr. kde R² znamená nižšiu alkylovú skupinu alebo benzylovú skupinu),

s vhodne N-chránenou aminokyselinou (alebo reaktívnym funkčným derivátom) všeobecného vzorca IX



v ktorom R⁶ a R⁷ nadobúdajú významy definované skôr a R⁸ znamená labilnú aminoskupinu chrániacu skupinu, napr. *tert*-butoxykarbonylovú skupinu, čím vznikne príslušná N-chránená zlúčenina všeobecného vzorca II.

Kondenzácia zlúčeniny všeobecného vzorca VIII so zlúčeninou všeobecného vzorca IX sa uskutočňuje spôsobom pre syntézu peptidov dobre známym, napr. ako je opísané skôr pre kondenzáciu zlúčeniny všeobecného vzorca II so zlúčeninou všeobecného vzorca III. N-ochranná skupina sa odstráni v odbore dobre známym spôsobom, napr. *tert*-butoxykarbonylová skupina sa odstráni pomocou bezvodnej kyseliny, ako je kyselina trifluóroctová alebo HCl.

Východiskové aminoestery a kyseliny zlúčeniny všeobecného vzorca VIII, respektíve IX, sú buď známe v odbore alebo, ak sú nové, je možné ich pripraviť napr. spôsobmi v odbore dobre známymi alebo tu uvedenými. Estery aminokyseliny všeobecného vzorca VIII sú výhodne S-enantioméry.

Východiskové látky všeobecného vzorca III sú známe, alebo, ak sú nové, je ich možné pripraviť bežnými spôsobmi. Výcho-

diskové látky sa pripravujú napr. zo zodpovedajúcich racemických alebo opticky aktívnych α -aminokyselín, ich konverziou na α -brómderivát nasledovanou jeho vytesnením inverziou alebo konfiguráciou za použitia príslušného tiolového derivátu všeobecného vzorca VII, za zásaditých podmienok, napríklad ako je opísané v európskej patentovej prihláške č. 524 553, publikovanej 27. januára 1993. S-debenzylácia výsledných produktov sa uskutočňuje redukčným štiepením, napr. pomocou Raneyho niklu v etanole. S-deacylácia sa uskutočňuje napr. pomocou zásad katalyzovanej hydrolýzy zriedeným vodným roztokom hydroxidu sodného. Cyklické východiskové látky všeobecného vzorca III je možné pripraviť podrobením cyklickej karboxylovej kyseliny (napr. kyseliny cyklopentánkarboxylovej) pôsobeniu síry v prítomnosti silnej zásady, ako je lítiumdietylamid.

Príprava zlúčenín podľa vynálezu spôsobom (b) zahŕňajúca kondenzáciu kyseliny všeobecného vzorca IV s esterom aminokyseliny všeobecného vzorca V sa uskutočňuje podobne ako spôsob (a). Podobne sa východiskové látky všeobecného vzorca IV pripravujú kondenzáciou kyseliny všeobecného vzorca III s esterom zodpovedajúcim gemdisubstituovaným aminokyselinám všeobecného vzorca IX (kde R^8 teraz znamená atóm vodíka) za podmienok podobných podmienkam opísaným skôr, nasledovanou odstránením karboxylovej ochrannnej skupiny.

Príprava zlúčenín podľa vynálezu spôsobom (c), zahŕňa vytesnenie odstupujúcej skupiny Y v zlúčenine všeobecného vzorca VI tiolovým derivátom $R^{3'}\text{-SH}$ v podobe jeho soli, sa uskutočňuje spôsobom v odbore dobre známym. Reaktívnou esterifikovanou hydroxylovou skupinou reprezentovanou symbolom Y je hydroxylová skupina esterifikovaná silnou anorganickou alebo organickou kyselinou. Príslušnými skupinami Y sú najmä halogenoskupiny, napríklad chloroskupina, bromoskupina alebo jodoskupina, tiež sulfonyloxyskupiny, ako nižšie alkyl- alebo arylsulfonyloxyskupiny, napríklad (metán-, etán-, benzén- alebo toluén-)sulfonyloxyskupina,

a tiež trifluórmetylsulfonyloxy skupina.

Vytesnenie sa uskutočňuje v inertnom rozpúšťadle, ako je dimetylformamid alebo metylénchlorid v prítomnosti zásady, ako je uhličitán draselný, trietylamin, diizopropyletylamin, N-metylmorfolín a podobne, pri izbovej alebo zvýšenej teplote.

Za použitia soli zlúčeniny R^3 -SH (napr. káliumticacetátu) sa reakcia uskutočňuje za neprítomnosti zásady, v inertnom rozpúšťadle, ako je tetrahydrofurán alebo dimetylformamid.

Podobne je možné východiskové látky všeobecného vzorca VI pripraviť reakciou dipeptidového derivátu všeobecného vzorca II s kyselinou všeobecného vzorca X



v ktorom R^4 a R^5 a Y nadobúdajú významy definované skôr,

za podmienok opísaných pre spôsob (a).

Zlúčeniny všeobecného vzorca X, v ktorých Y znamená halogenoskupinu, ako α -brómkarboxylové kyseliny, sú známe a pripravujú sa napr. spôsobom opísaným v medzinárodnej prihláške WO 99/55726 publikovanej 4. novembra 1999.

Zlúčeniny podľa vynálezu a medziprodukty, napr. tie všeobecných vzorcov II, V a VI, obsahujúce bočný reťazec alk-X-R^1 , sa pripravujú z príslušných zlúčenín obsahujúcich bočný reťazec $\text{alk-X}'$, kde X' znamená aminoskupinu, hydroxyskupinu, ticlovú skupinu alebo vhodnú odstupujúcu skupinu, spôsobom v odbore známym a tu ilustrovaným. Napríklad kyseliny a estery všeobecného vzorca V je možné získať tak, že sa vychádza zo serínu, homoserínu, treonínu, cysteínu a podobne, výhodne v opticky aktívnej forme.

Určité zlúčeniny podľa vynálezu a medziprodukty je možné

vzájomne previesť všeobecnými reakciami v odbore dobre známymi.

Volné merkaptány je možné previesť na S-acylderiváty reakciou s reaktívnym derivátom karboxylovej kyseliny (čo zodpovedá stavu, kedy vo všeobecnom vzorci I R^3 znamená acylovú skupinu), ako je anhydrid kyseliny alebo uvedený chlorid, výhodne v prítomnosti zásady, ako je trietylamín, v inertnom rozpúšťadle, ako je acetonitril alebo metylénchlorid.

Volné alkoholy a fenoly je možné previesť na príslušné acyl-deriváty, napr. reakciou s príslušným chloridom kyseliny v prítomnosti zásady, ako je trietylamín.

Volné merkaptány, kde R^3 znamená atóm vodíka, je možné oxidovať na príslušné disulfidy, napr. pomocou vzdušnej oxidácie alebo za použitia miernych oxidačných činidiel, ako je jód v alkoholovom roztoku. Naopak, disulfidy je možné redukovať na príslušné merkaptány, napr. pomocou redukčných činidiel, ako je natriumborohydrid, zinok a kyselina octová alebo tributylfosfín.

Estery karboxylových kyselín je možné pripraviť z karboxylových kyselín kondenzáciou napr. s halogenidom zodpovedajúcim R^2-OH v prítomnosti zásady, alebo pomocou nadbytku alkoholu v prítomnosti kyslého katalyzátora, a to spôsobmi v odbore dobre známymi.

Estery karboxylových kyselín a S-acylové deriváty je možné hydrolyzovať, napr. vodnými alkáliami, ako sú uhličitany alebo hydroxidy alkalických kovov. S-acylové a esterové skupiny je možné selektívne odstrániť, ako je tu ilustrované.

Výhodne, a tam, kde je to možné, sa pripravujú výhodné izoméry podľa vynálezu všeobecného vzorca Ia z čistých enantiomérov.

V prípade, ak sa získajú zmesi stereoizomérov (napr. diastereomérov), je možné tieto rozdeliť známymi spôsobmi, ako je frakčná kryštalizácia a chromatografia (napr. chromatografia v tenkej vrstve, stĺpcová chromatografia, flash chromatografia).

Racemické voľné kyseliny je možné rozdeliť na optické antipódy frakčnou kryštalizáciou d- alebo l-(α -metylbenzylamínových, cínchonidínových, cínchonínových, chinínových, chinidínových dehydroabietylamínových, brucínových alebo strychnínových) solí a podobne. Racemické produkty, pokiaľ to nie sú diastereoizoméry, je možné najskôr previesť na diastereoizoméry pomocou opticky aktívnych činidiel (ako sú opticky aktívne alkoholy, čím vzniknú estery), ktoré je možné potom rozdeliť skôr opísaným spôsobom, a napr. hydrolyzovať na jednotlivé enantioméry. Racemické produkty je možné tiež rozdeliť chirálnou chromatografiou, napr. vysokotlakovou kvapalínovou chromatografiou za použitia chirálneho absorbentu; tiež tak enzymatickým rozdelením, napr. esterov alkalázou.

Skôr uvedené reakcie sa uskutočňujú štandardnými spôsobmi, v prítomnosti alebo v neprítomnosti riedidiel, výhodne takých, že sú inertné proti reaktantom a ich rozpúšťadlám, katalyzátorov, alkalických alebo kyslých kondenzačných činidiel alebo ďalších uvedených činidiel, alebo/a sú inertné proti reaktantom a sú ich rozpúšťadlami, katalyzátorov, alkalických alebo kyslých kondenzačných činidiel alebo ďalších uvedených činidiel, alebo/a inertných atmosfér, pri nízkych teplotách, izbovej teplote alebo zvýšených teplotách, výhodne blízko teploty varu použitých rozpúšťadiel, za atmosferického alebo superatmosferického tlaku.

Vynález ďalej zahŕňa akýkoľvek variant uvedených spôsobov, v ktorom sa použije medziprodukt získateľný v ľubovoľnom stupni spôsobu ako východisková látka a uskutočnia sa zostávajúce stupne, alebo sa proces ukončí v ktoromkoľvek jeho stupni, alebo sa v ňom východiskové látky vytvárajú za reakčných podmienok, alebo sa v ňom reakčné zložky použijú vo forme ich solí alebo opticky čistých antipódov. V uvedených reakciách by sa mali použiť prevažne východiskové látky, ktoré vedú k tvorbe zlúčenín skôr označených ako výhodné.

Predložený vynález sa ďalej týka použitia zlúčenín podľa

vynálezu a ich farmaceuticky prijateľných, netoxických adičných solí s kyselinou, alebo ich farmaceutických kompozícií, ako liečiv u cicavcov, na inhibíciu ako ACE, tak NEP, a napr. na prevenciu alebo liečenie kardiovaskulárnych ochorení, ako sú hypertenzia, edém, retencia solí a kongestívne srdcové zlyhanie, buď samotných alebo v kombinácii s jedným alebo viacerými ďalšími činidlami, ktoré sú použiteľné na liečenie takých ochorení. Týmto môžu byť antihypertenzívne činidlá, antiaterosklerotické činidlá, kardiálne činidlá, diuretické činidlá, antidiabetické činidlá, činidlá znižujúce cholesterol a podobne. Pokiaľ sa použijú v kombinácii s ďalšími terapeutickými činidlami, je možné ich podávať oddelene alebo vo fixnej kombinácii.

Príklady terapeutických činidiel, ktoré je možné použiť v kombinácii, sú antagonisty receptora pre angiotenzín II, ako valsartán, losartán, candesartán, eprosartán, irbesartán a telmisartán; β -blokátory, ako bisoprolol, propranolol, atenolol, sotalol a metoprolol; inhibítory renínu; blokátory kalciových kanálov, ako amlodipín, verapamil, diltiazém, bepridil, felodipín, isradipín, nicardipín, nifedipín, nimodipín a nisoldipín; inhibítory aldosterónsyntázy/antagonisty aldosterónu, ako eplerenón, (+)-fadrozol (WO 01/76574), spironolaktón a canrenón; diuretiká, ako furosemid, hydrochlórtiazid, indapamid, metazolón, amilorid a triamterén; antagonisty receptora vazopresínu, ako OPC 21268, SR 49059, SR 121463A, SR 49059, VPA 985, OPC 31260 a YM 087; kardiotonické liečivá, ako enoximón a levosimendán; antagonisty endotelínu a ECE inhibítory, ako bosentán, BMS 193884, TEC 3711 a zlúčeniny opísané v dokumente WO 99/55726; antiaterosklerotické činidlá, najmä činidlá znižujúce cholesterol, ako sekvestranty žlčových kyselín (napr. cholestyramín a colestipol); inhibítory absorpcie cholesterolu, ako ezetimib; fibráty, ako fenofibrát a gemfibrozil; statínové inhibítory HMG CoA reduktázy, ako atorvastatín, fluvastatín, lovastatín, pravastatín, simvastatín a pitavastatín; a deriváty kyseliny nikotínovej; tyromimetické činidlá, ako činidlá opísané v US patente č. 5 569 674 a doku-

mente WO 00/58279; tiež tak antidiabetické činidlá, ako repaglinid, nateglinid, metformín, rosiglitazón, pioglitazón, glyburid, glipizid, glimepirid, DPP 728, LAF 237, NH 622 a DRF 4158.

Predložený vynález sa týka tiež použitia zlúčenín podľa vynálezu na prípravu farmaceutických kompozícií, najmä farmaceutických kompozícií s ACE a NEP inhibičnou aktivitou, a, napr. antihypertenzívnou aktivitou.

Farmaceutickými kompozíciami podľa vynálezu sú kompozície vhodné na enterálne, ako orálne alebo rektálne, transdermálne a parenterálne podávanie cicavcom, vrátane človeka, na liečenie kardiovaskulárnych ochorení, ako je hypertenzia, obsahujúce účinné množstvo farmakologicky účinnej zlúčeniny podľa vynálezu alebo jej farmaceuticky prijateľné soli, samotnej alebo v kombinácii s jedným alebo viacerými farmaceuticky prijateľnými nosičmi, a tiež tak v kombinácii s ďalšími terapeutickými činidlami, tiež použiteľnými na liečenie kardiovaskulárnych ochorení, ako je uvedené skôr.

Farmakologicky účinné zlúčeniny podľa vynálezu sú použiteľné na prípravu farmaceutických kompozícií obsahujúcich ich účinné množstvo v spojení s alebo v zmesi s pomocnými látkami alebo nosičmi vhodnými buď na enterálnu alebo na parenterálnu aplikáciu. Výhodné sú tablety a želatínové kapsuly obsahujúce účinnú látku spolu s a) riedidlami, napr. laktózou, dextrózou, sacharózou, manitolom, sorbitolom, celulórou alebo/a glycinom; b) lubrikantami, napr. silikou, mastencom, kyselinou stearovou, jej horečnatými alebo vápenatými soľami alebo/a polyetylénglykolom; pre tablety tiež s c) spojivami, napr. kremičitanom horečnatohlinitým, škrobovou pastou, želatínou, tragakantom, metylcelulózou, natriumkarboxymetylcelulózou alebo/a polyvinylpyrolidónom; ak je to žiaduce, s d) dezintegračnými činidlami, napr. škrobmi, agarom, kyselinou alginovou alebo jej sodnou soľou, alebo efervescentnými zmesami; a, ak je to žiaduce, absorbentami, farbiacimi činidlami, ochuťovadlami a sladidlami. Injektova-

teľnými kompozíciami sú výhodne vodné izotonické roztoky alebo suspenzie, a čapíky sú výhodne pripravené z tukových emulzií alebo suspenzií. Uvedené kompozície môžu byť sterilizované alebo/a môžu obsahovať pomocné látky, ako konzervačné, stabilizačné, zmáčacie alebo emulgačné činidlá, solubilizačné činidlá, soli na reguláciu osmotického tlaku alebo/a pufry. Ďalej môžu kompozície tiež obsahovať ďalšie terapeuticky cenné látky. Uvedené kompozície sa pripravujú bežnými miešacími, granulačnými alebo potahovacími postupmi, a obsahujú asi 0,1 až 75%, výhodne asi 1 až 50%, účinnej látky.

Vhodné prípravky na transdermálnu aplikáciu zahŕňajú účinné množstvo zlúčeniny podľa vynálezu s nosičom. K výhodným nosičom patria absorbovateľné farmakologicky prijateľné rozpúšťadlá k napomáhaniu prestupu cez kožu hostiteľa. Charakteristicky sú transdermálne zariadenia vo forme obväzu obsahujúceho oporný člen, rezervoár obsahujúci zlúčeninu, prípadne s nosičmi, prípadne bariéru regulujúcu rýchlosť na uvoľňovanie zlúčeniny do kože hostiteľa regulovanou a dopredu stanovenou rýchlosťou po dlhší čas, a prostriedky na pripevnenie zariadenia na kožu.

Jednotková dávka pre cicavcov s hmotnosťou asi 50 až 70 kg môže obsahovať asi v rozsahu 10 a 200 mg účinnej látky. Dávka účinnej zlúčeniny je závislá od druhu teplokrvného živočícha (cicavca), telesnej hmotnosti, veku a individuálneho stavu, a od spôsobu podávania.

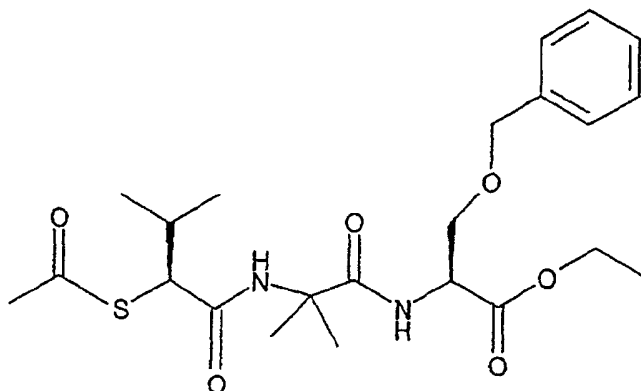
Nasledujúce príklady sú určené na ilustráciu vynálezu a nemajú ho nijako obmedzovať. Teploty sa udávajú v stupňoch Celzia. Ak nie je uvedené inak, uskutočňujú sa všetky odparovania za zníženého tlaku, výhodne v rozsahu asi 15 a 100 mmHg. Optické rotácie (vyjadrené v stupňoch) sa merajú pri izbovej teplote pri 589 nm (D čiara sodíka) alebo iných vlnových dĺžkach, ako je upresnené v príkladoch. Štruktúra zlúčenín sa potvrdzuje štandardnými analytickými metódami, ako je hmotnostné spektrum, elementárna analýza, NMR, IR spektroskopia a podobne.

Prefixy R a S sa používajú na označenie absolútnej konfigurácie na každom centre asymetrie.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

- (a) etylester N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu



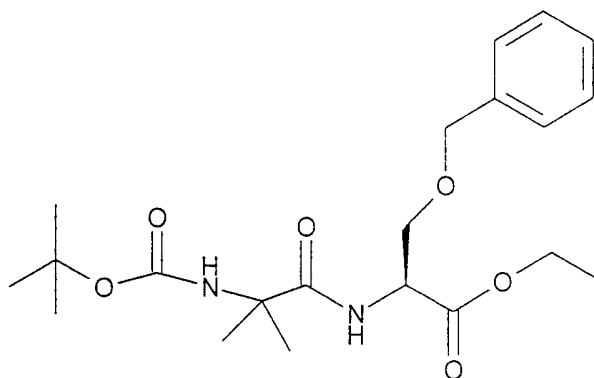
Etylester N-[2-[(R)-3-bróm-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu (4,96 g, 10,5 mmol) sa rozpustí v tetrahydrofuráne (100 ml) a pridá sa tioacetát draselný (6,00 g, 52,5 mmol). Zmes sa mieša pri izbovej teplote počas 4 hodín, potom sa zriedi etylacetátom (500 ml) a premyje vodou (100 ml), roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2 x 100 ml), vodou (2 x 100 ml) a potom soľankou (50 ml). Roztok sa suší pomocou síranu sodného a koncentruje vo vákuu. Surový materiál sa čistí flash chromatografiou (silikagél, 3:2 hexán/etylacetát), čím sa získa zlúčenina uvedená v názve; teplota topenia 55 až 57°C; $[\alpha]^{20}_D$ -63,5° (c = 0,99, CH₃OH); MS(M + H): 467.

Východisková látka sa pripraví nasledovne:

Roztok O-benzyl-L-serínu (9,75 g, 50 mmol) v etanole (200 ml) sa sýti plynným HCl počas 8 minút. Zmes sa cez noc mieša pri izbovej teplote a potom koncentruje vo vákuu. Pevná látka sa premyje v dietyléteri a zhromaždí filtráciou, čím sa získa

výťažok hydrochloridu etylesteru O-benzyl-L-serínu v podobe bielej pevnej látky.

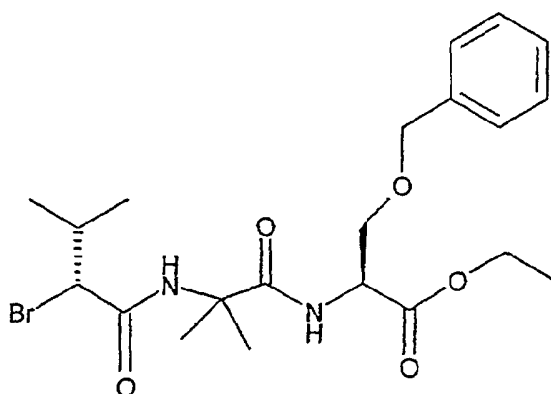
K roztoku BOC- α -metylalanínu (3,05 g, 15 mmol), hydrochloridu etylesteru O-benzyl-L-serínu (3,89 g, 15 mmol), 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimidu (EDCI, 2,88 g, 15 mmol) a 1-hydroxy-7-azabenzotriazolu (HOAT, 2,04 g, 15 mmol) v metylénchloride (150 ml) sa pridá trietylamin (1,52 g, 15 mmol). Zmes sa cez noc mieša a potom koncentruje vo vákuu. Rezíduum sa znova rozpustí v etylacetáte a premyje vodou, 1N HCl, vodou a soľankou. Roztok sa suší pomocou síranu sodného a koncentruje, čím sa získa výťažok etylesteru N-[2-(BOC-amino)-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu vzorca



Skôr uvedený karbamát (6,12 g, 15 mmol) sa rozpustí v metylénchloride (200 ml) a ochladí v ľadovom kúpeli. Roztok sa 10 minút sýti plynným HCl a potom sa mieša cez noc pri izbovej teplote. Rezíduum sa koncentruje. Pridá sa metylénchlorid a rezíduum sa znova koncentruje, čím sa získa hydrochlorid etylesteru N-(2-amino-2-metylpropionyl)-O-benzyl-L-serínu v podobe peny; MS(M + H): 309.

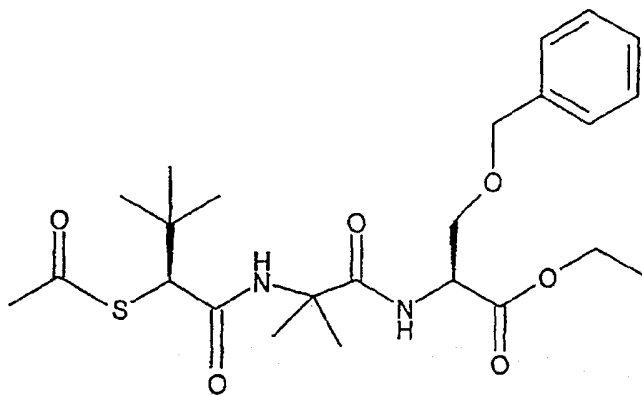
K roztoku skôr uvedeného aminorhydrochloridu (4,90 g, 14 mmol) v metylénchloride (150 ml) sa pridá diizopropylaminová soľ kyseliny (R)-2-bróm-3-metylbutánovej (4,03 g, 14 mmol), 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimidhydrochlorid (EDCI, 2,70 g, 14 mmol) a 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAT, 1,90 g, 14 mmol). Zmes sa mieša pri izbovej teplote cez noc a potom sa koncentruje

vo vákuu. Rezíduum sa rozpustí v etylacetáte a premyje vodou, zriedeným roztokom hydrogenuhlíčitanu sodného, vodou, 1N HCl a potom solankou. Roztok sa suší pomocou síranu sodného a koncentruje, čím vzniká pevná látka. Pevná látka sa čistí flash chromatografiou (silikagél, 2:1 hexán/etylacetát), čím vznikne etylester N-[2-(*R*)-2-bróm-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu vzorca

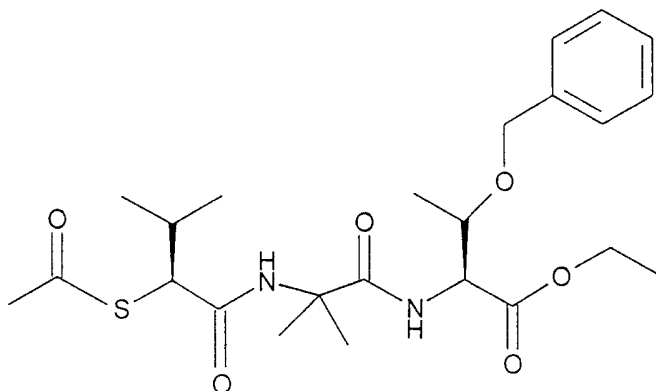


Podobne sa pripraví:

- (b) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetyltio-3,3-dimetylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu

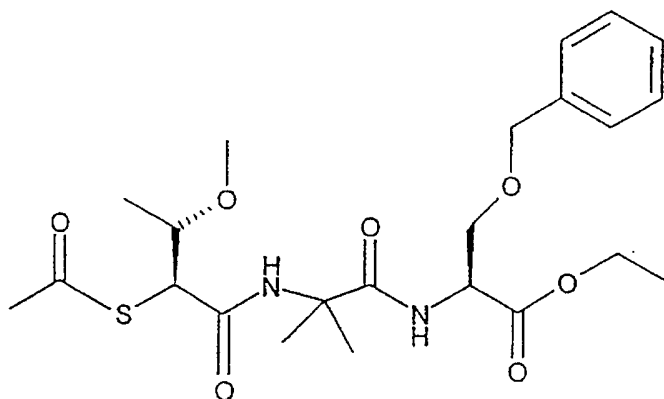


- (c) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-treonínu;
teplota topenia 121 až 122°C.



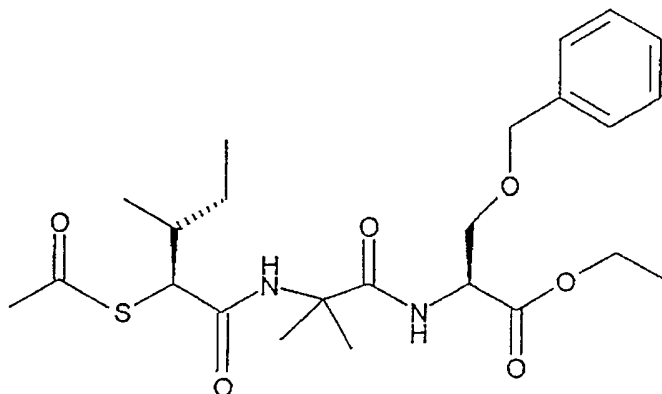
- (d) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetyltio-3-metoxybutanoylamino]-2-methylpropionyl]-O-benzyl-L-serinu;

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 14,9^{\circ}$ ($c = 1,04$, DMSO)

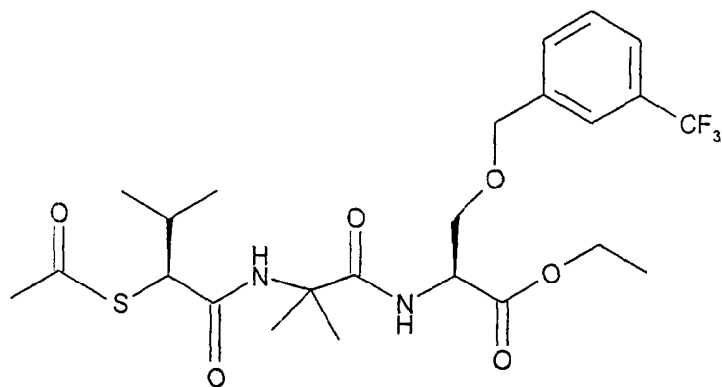


- (e) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetyltio-3-methylpentanoylamino]-2-methylpropionyl]-O-benzyl-L-serinu;

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} - 6,93^{\circ}$ ($c = 1,09$, CH₃OH)



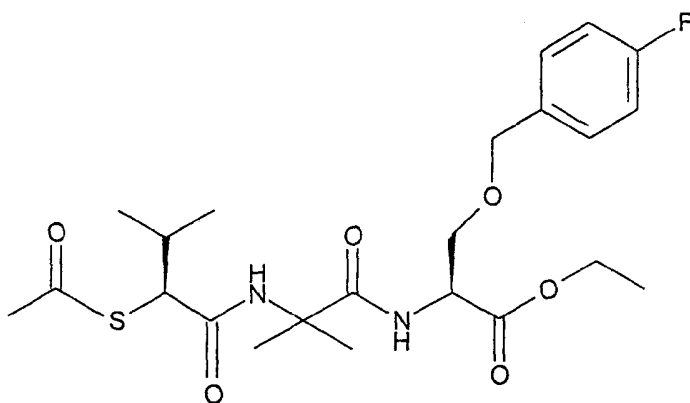
- (f) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetyltio-3-methylbutanoylamino]-2-methylpropionyl]-O-(3-trifluórmetylbenzyl)-L-serínu



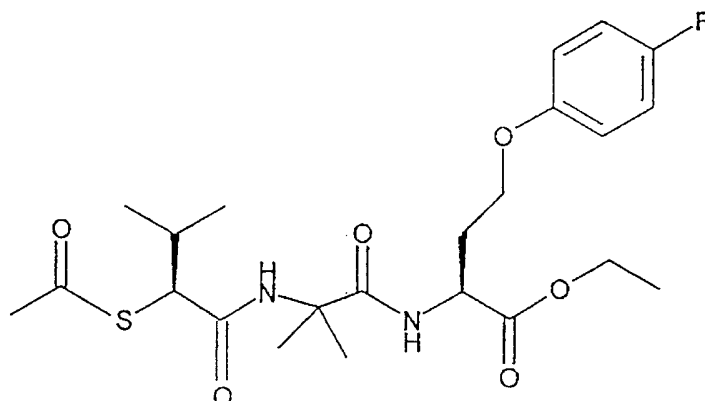
Východiskový hydrochlorid etylesteru O-(3-trifluórmetylbenzyl)-L-serínu sa pripraví nasledovne:

K suspenzii natriumhydridu (60% v oleji, 3,04 g, 76 mmol) v N,N-dimetylformamide (60 ml) sa pri 0°C pridá BOC-L-serín (7,80 g, 38 mmol). Zmes sa 1 hodinu mieša a potom sa pridá m-trifluórmetylbenzylchlorid (7,39 g, 38 mmol). Zmes sa nechá zohriať na izbovú teplotu a mieša sa cez noc. Zmes sa hasí vodou. Pridá sa etylacetát a zmes sa premyje solankou, suší pomocou MgSO₄ a koncentruje, čím vznikne žltý olej, ktorý sa čistí flash chromatografiou (SiO₂; hexán/etylacetát), čím vznikne číry olej. Rezíduum sa rozpustí v etanole (120 ml), roztok sa ochladí na 0°C a 5 minút sýti plynným HCl. Zmes sa nechá zohriať na izbovú teplotu a mieša sa cez noc. Zmes sa koncentruje, čím vznikne hydrochlorid etylesteru O-(4-trifluórmetylbenzyl)-L-serínu.

(g) etylester N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(4-fluórbenzyl)-L-serínu ako olej.



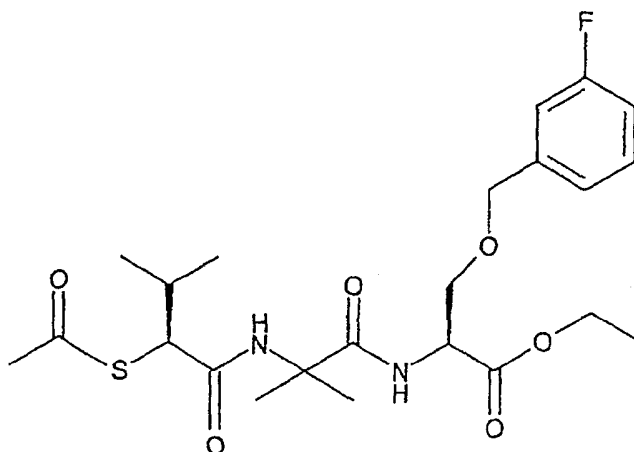
- (h) etylester N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(4-fluórfenyl)-L-homoserínu ako olej.



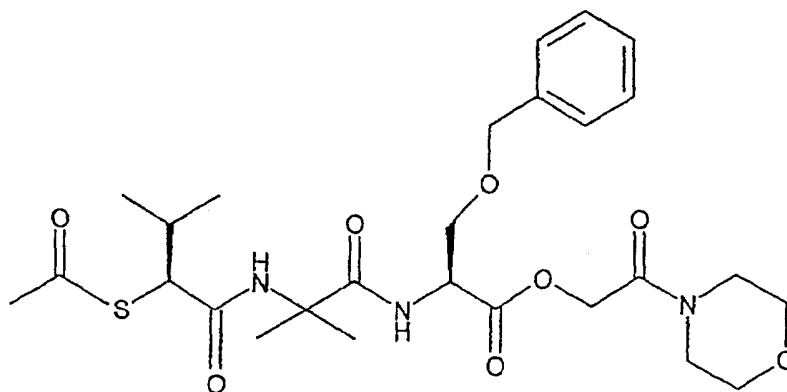
Východiskový hydrochlorid etylesteru O-(4-fluórfenyl)-L-homoserínu sa pripraví nasledovne:

K roztoku *terc*-butylesteru BOC-L-homoserínu (3,2 g, 11,6 mmol) v tetrahydrofuráne sa pridá trifenyľfosfín (7,59 g, 29 mmol), *p*-fluórfenol (2,08 g, 18,6 mmol) a 1,1'-azobis(N,N-dimetylformamid) (3,2 g, 18,6 mmol). Zmes sa mieša cez noc, premyje solankou, suší pomocou MgSO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni, čím vznikne oranžový olej. Olej sa čistí flash chromatografiou (SiO₂, 85% hexán/15% etylacetát), čím vznikne číry olej, ktorý sa rozpustí v etanole (100 ml) a roztok sa nasýti plynným HCl a potom mieša cez noc. Zmes sa koncentruje, čím vznikne hydrochlorid etylesteru O-(4-fluórfenyl)-L-homoserínu v podobe bielej pevnej látky.

- (i) etylester N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(3-fluórfenyl)-L-homoserínu



- (j) morfolinokarbonylmetylester N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu, čistený pomocou chromatografie na silikagéli s hexánom, etylacetátom, metanolom (20:70:10), v podobe bielej pevnej látky.

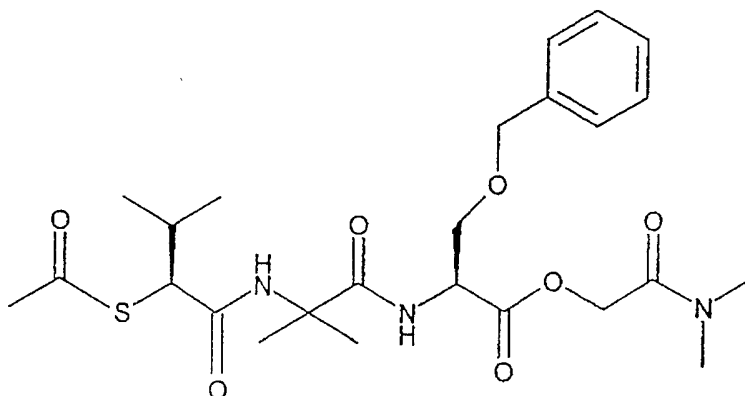


Východisková látka sa pripraví nasledovne:

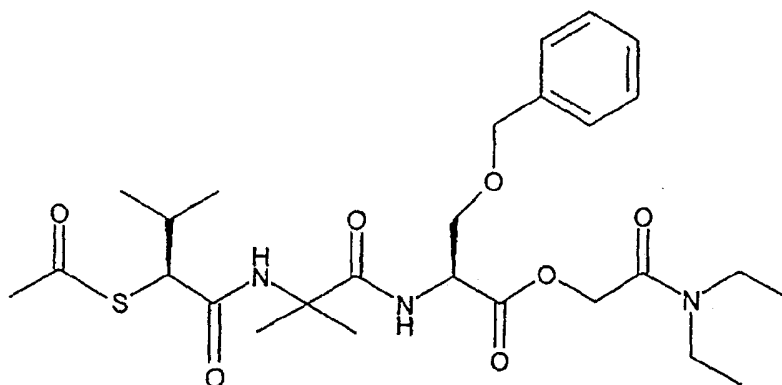
O-benzyl-L-serín (10,0 g, 51,3 mmol), di-terc-butylbikarbonát (11,2 g, 51,4 mmol) a 1N hydroxid sodný (103 ml, 103 mmol) sa spolu miešajú v 100 ml dioxánu pri izbovej teplote počas 16 hodín. Zmes sa koncentruje vo vákuu, vloží do vody, okyslí na pH 1 pomocou 6N HCl a extrahuje etylacetátom. Organická vrstva sa premyje vodou, potom solankou a suší pomocou bezvodého síranu horečnatého. Zmes sa filtruje a koncentruje vo vákuu, čím vznikne BCC-O-benzyl-L-serín v podobe oleja. K roztoku BOC-O-benzyl-L-serínu (2,20 g, 7,46 mmol), trietylamínu (0,75 g, 7,43 mmol) a jodidu sodného (0,11 g, 0,73 mmol) v 5 ml N,N-dimetylformamidu sa pridá 4-(2-chlóracetyl)morfolín (1,22 g,

7,48 mmol) a zmes sa pri izbovej teplote mieša počas 2 hodín. Zmes sa zriedi etylacetátom, premyje vodou, potom soľankou a suší pomocou bezvodého síranu horečnatého. Zmes sa filtruje a koncentruje vo vákuu, čím vznikne žltý olej. Olej sa podrobí chromatografii na silikagéli so zmesou hexán:etylacetát:metanol (35:60:5), čím vznikne morfolinokarbonylmetylester BOC-O-benzyl-L-serín v podobe bezfarebného oleja. Cez roztok karbamátesteru (1,72 g, 4,08 mmol) v metylénchloride (50 ml) sa počas 5 minút prebubláva plynný HCl a zmes sa mieša pri izbovej teplote počas 3 hodín. Výsledná zmes sa koncentruje vo vákuu, čím vznikne morfolinokarbonylmetylester O-benzyl-L-serínu v podobe peny.

- (k) dimetylaminokarbonylmetylester N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu, pripravený a čistený spôsobom opísaným pre zlúčeninu z príkladu 1 (j)

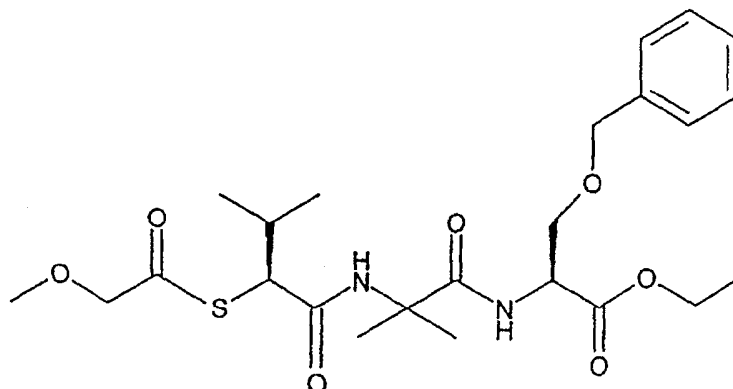


- (l) dietylaminokarbonylmetylester N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu, pripravený spôsobom opísaným pre zlúčeninu z príkladu 1(j) a čistený chromatografiou na silikagéli s hexánom, etylacetátom, metanolom (35:60:5).



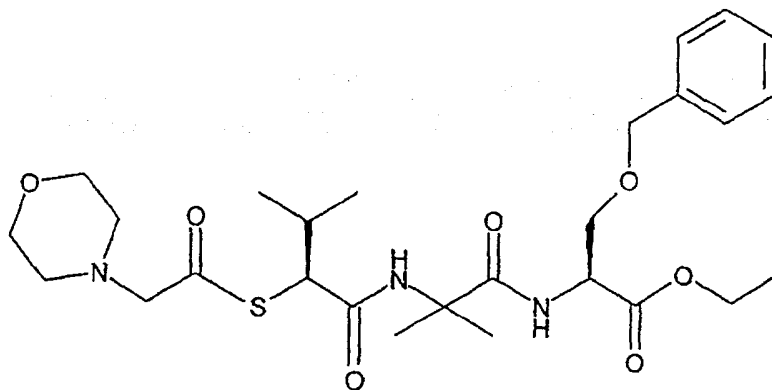
(m) etylester N-[2-[(*S*)-2-[(metoxyacetyl)tio]-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu;

$[\alpha]^{20}_D - 55,27^\circ$; ($c = 1,084$, CH_3OH)



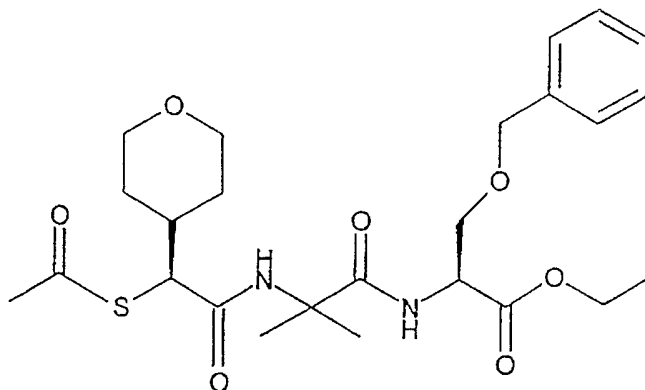
(n) etylester N-[2-[(*S*)-2-[(morfolinoacetyl)tio]-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu;

$[\alpha]^{20}_D - 48,61^\circ$ ($c = 1,098$, CH_3OH)



(o) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetylthio-2-(4-tetrahydropyranyl)acetyl]amino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu;

$[\alpha]_D^{20} - 55,4^\circ$ ($c = 0,83$, DMSO)

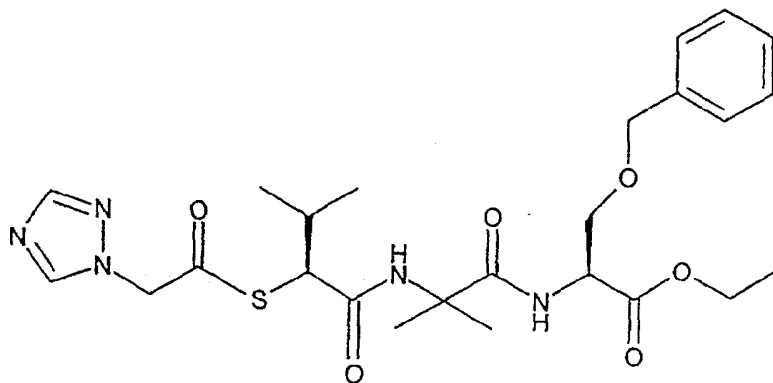


Východisková kyselina (*D*)- α -bróm- α -(4-tetrahydropyranyl)octová sa pripraví nasledovne:

Roztok dusitanu sodného (4,71 g, 68,3 mmol) v 35 ml vody sa po kvapkách pridá k vychladenému (0°C) roztoku (*D*)- α -bróm- α -(4-tetrahydropyranyl)glycínu (J. Am. Chem. Soc., zv. 117, str. 9375 až 9376 (1995) (7,05 g, 44,3 mmol) a 48% HBr (aq) (70 ml) v 35 ml vody. Po skončení pridávania sa zmes nechá zohriať na izbovú teplotu a pri izbovej teplote sa mieša počas 3 hodín. Zmes sa extrahuje etylacetátom, organická vrstva sa postupne premyje vodou, 5% vodným tiosíranom sodným a soľankou, a potom sa suší pomocou bezvodého síranu horečnatého. Zmes sa filtruje a koncentruje vo vákuu a získa sa kyselina (*D*)- α -bróm- α -(4-tetrahydropyranyl)octová v podobe pevnej látky.

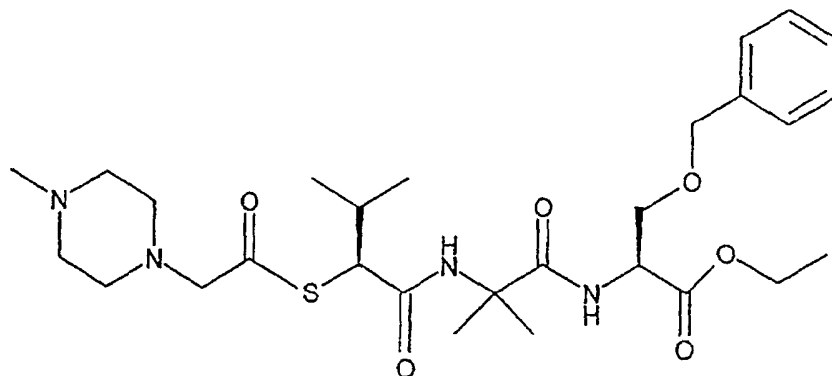
(p) etylester N-[2-[(*S*)-2-[(1-(1,2,4)-triazolyl)acetylthio]-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu;

teplota topenia 106 až 107°C; $[\alpha]_D - 61,46^\circ$ ($c = 1,09$, CH₃OH)



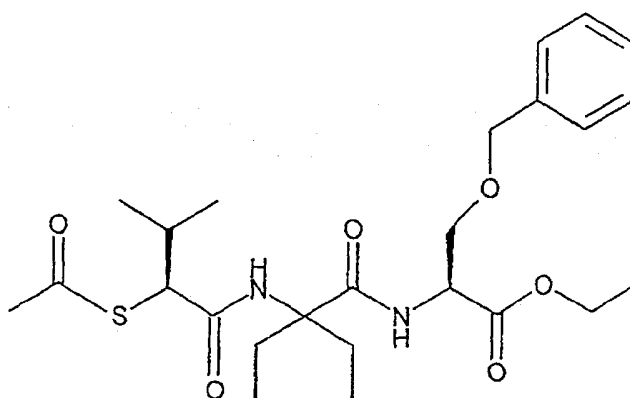
(q) etylester N-[2-[(*S*)-2-[(4-methylpiperazino)acetyltio]-3-methylbutanoylamino]-2-methylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu;

teplota topenia 95 až 96°C; $[\alpha]_D - 48,5^\circ$ ($c = 0,935$, CH_3OH).



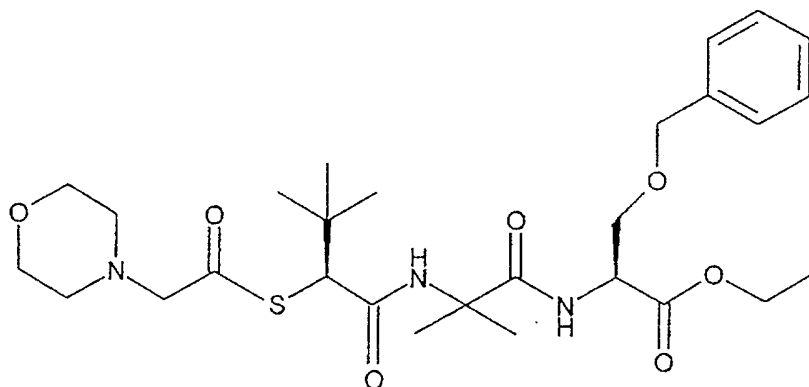
(r) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetyltio-3-methylbutanoylamino]-2-ethylbutanoyl]-O-benzyl-L-serínu;

$[\alpha]_D - 83,6^\circ$ ($c = 1,07$, CH_3OH).



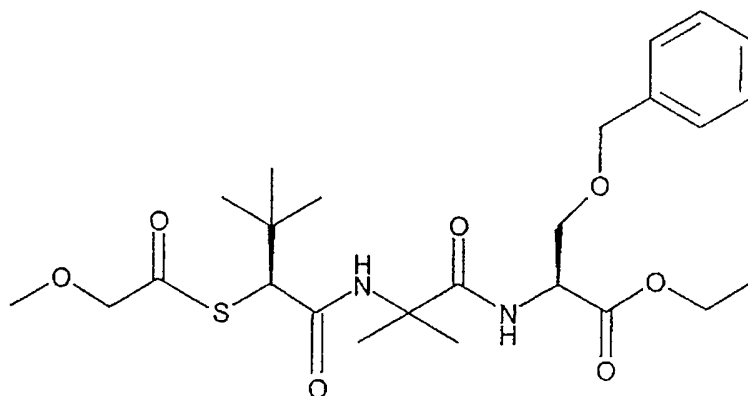
(s) etylester N-[2-[(*S*)-2-(morfolinoacetyltio)-3,3-dimethylbutanoylamino]-2-methylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu;

$[\alpha]_D - 55,5^\circ$ ($c = 1,008$, DMSO)

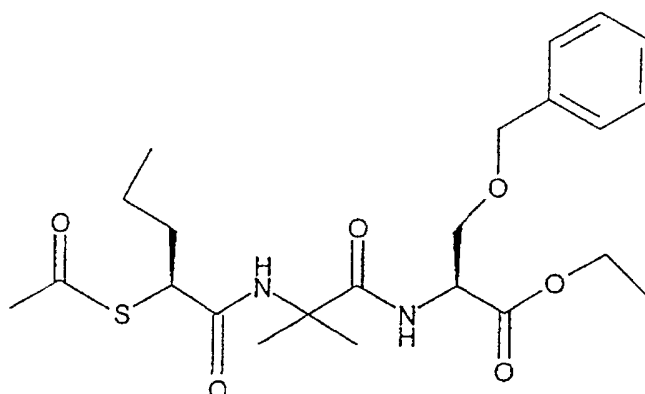


(t) etylester N-[2-[(*S*)-2-[(metoxyacetyl)tio]-3,3-dimetylbutano-ylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu;

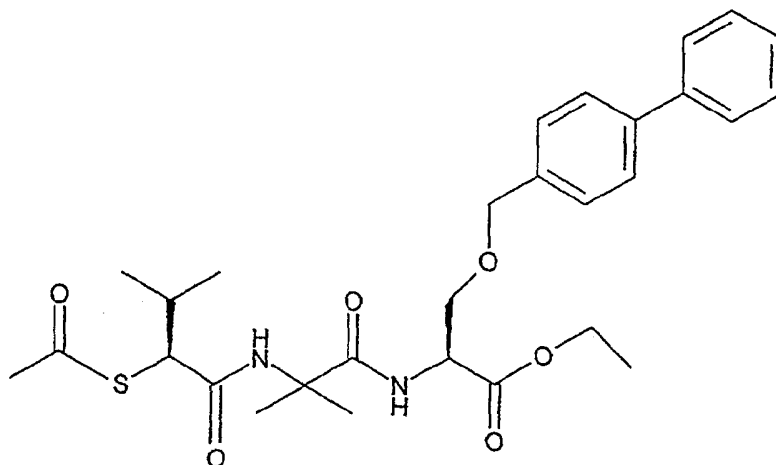
$[\alpha]_D - 61,67^\circ$ ($c = 1,024$, DMSO)



(u) etylester N-[2-(*S*)-2-(acetylthio)pentanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu

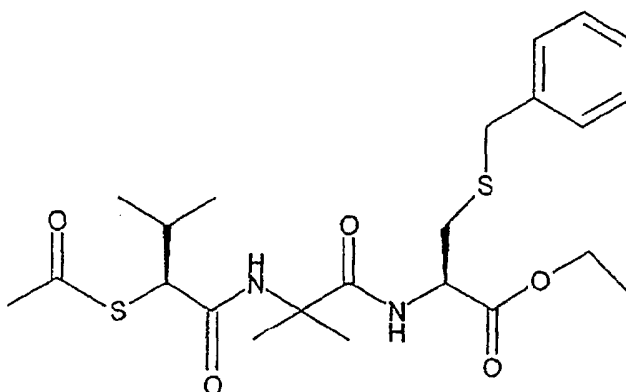


(v) etylester N-[2-[(*S*)-2-acetylthio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(4-bifenylylmetyl)-L-serínu



Príklad 2

Etylester N-[2-[(*S*)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-*S*-benzyl-*L*-cysteínu



Zlúčenina uvedená v názve sa pripraví podobne ako v príklade 1 a rekryštalizuje sa zo systému metyl-terc-butyléter/hexán, teplota topenia 69 až 71°C.

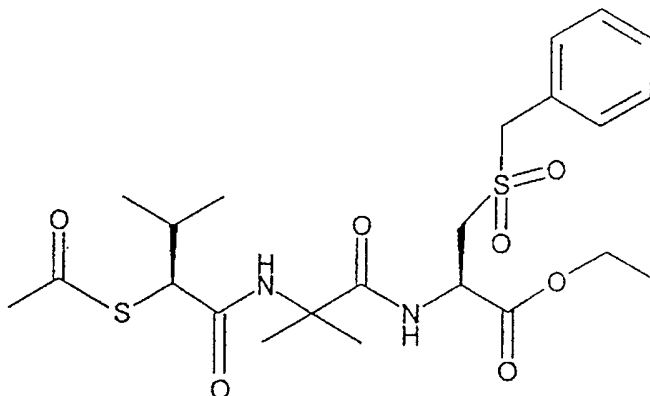
Východisková látka sa pripraví nasledovne:

Počas pätnástich minút sa roztokom BOC-*S*-benzyl-*L*-cysteínu (9,33 g, 30 mmol) v etanole (200 ml) prebubláva plynný HCl. Nádobu sa zazátkuje a mieša sa cez noc pri izbovej teplote. Rozpúšťadlo sa odparí vo vákuu a rezíduum sa počas 1,5 hodiny mieša v dietyléteri (150 ml) a získa sa hydrochlorid etylesteru *S*-benzyl-*L*-cysteínu v podobe pevnej látky.

Zmes hydrochloridu etylesteru S-benzyl-L-cysteínu (7,98 g, 29 mmol), BOC- α -metylalanínu (5,89 g, 29 mmol), trietylamínu (2,93 g, 29 mmol), 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT, 3,92 g, 29 mmol) a EDCI (5,57 g, 29 mmol) v metylénchloride (200 ml) sa za argónovej atmosféry mieša cez noc pri izbovej teplote. Reakčná zmes sa odparí do sucha a rezíduum sa rozpustí v etylacetáte (200 ml). Roztok sa premyje vodou (50 ml), 1N HCl (50 ml), vodou (50 ml), 5% hydrogenuhličitanom sodným (50 ml), vodou (50 ml) a nakoniec soľankou (25 ml). Potom sa roztok suší pomocou síranu sodného, filtruje a odparí do sucha, čím vznikne metylester N-[2-(BOC-amino)-2-metylpropionyl]-S-benzyl-L-cysteínu.

Príklad 3

Etylester kyseliny N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(benzylsulfonyl)propiónovej



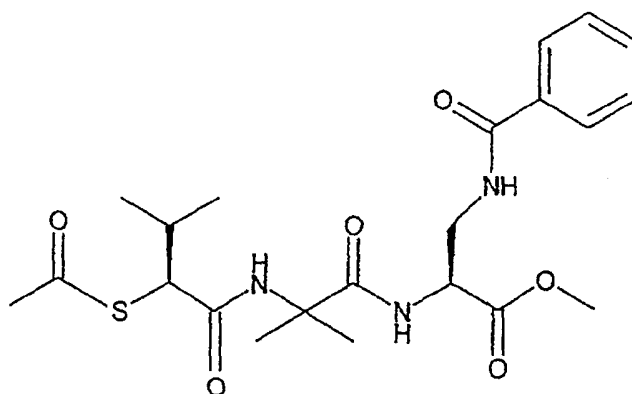
Skôr uvedená zlúčenina sa pripraví podobne ako v príklade 1.

Východisková látka sa pripraví nasledovne:

K roztoku etylesteru N-[2-(BOC-amino)-2-metylpropionyl]-S-benzyl-L-cysteínu (7,21 g, 17 mmol) v metylénchloride (250 ml) sa za argónovej atmosféry pridá kyselina *m*-chlórperbenzoová (8,77 g, 51 mmol) a zmes sa mieša cez noc pri izbovej teplote. Zmes sa odparí do sucha a rezíduum sa rozpustí v etylacetáte (300 ml). Roztok sa premyje 5% hydrogenuhličitanom sodným (3 x 50 ml), vodou (50 ml) a soľankou (25 ml). Roztok sa suší

pomocou síranu sodného, filtruje a odparí vo vákuu, čím vzniká etylester kyseliny N-[2-(BOC-amino)-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(benzylsulfonyl)propiónovej.

- (a) metylester kyseliny N²-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(benzoylamino)propiónovej



Zmes benzoylchloridu (0,085 ml, 0,73 mmol), hydrochloridu metylesteru kyseliny N²-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-(S)-2,3-diaminopropiónovej (0,29 g, 0,73 mmol) a trietylamínu (0,15 ml, 1,49 mmol) v metylénchloride (10 ml) sa mieša pri izbovej teplote počas 16 hodín. Reakčná zmes sa odparí do sucha vo vákuu, rezíduum sa rozpustí v etylacetáte a roztok sa premyje vodou, potom nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a soľankou, suší pomocou bezvodého síranu horečnatého a odparí do sucha čím vznikne olej. Olej sa podrobí chromatografii na silikagéli s hexánom a etylacetátom (50:50) a získa sa zlúčenina uvedená v názve v podobe bielej peny s teplotou topenia 48 až 54°C.

- (b) Podobne sa pripraví metylester kyseliny N²-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(benzénsulfónamido)propiónovej;

teplota topenia 47 až 51°C; $[\alpha]^{20}_D$ - 41,72 ($c = 1,03$, CH₃OH).

Východisková látka sa pripraví nasledovne:

Zmes hydrochloridu metylesteru kyseliny (S)-2-amino-3-(BOC-amino)propiónovej (4,6 g, 2,1 mmol), N-CBZ- α -metylalalanínu (5,0 g, 2,1 mmol), HOAT (2,87 g, 2,1 mmol), EDCI (4,02 g, 2,1 mmol) a trietylaminu (2,93 g, 2,1 mmol) v metylénchloride (50 ml) sa mieša pri izbovej teplote počas 16 hodín. Reakčná zmes sa premyje solankou, suší pomocou bezvodého síranu horečnatého a koncentruje vo vákuu. Výsledný olej sa podrobí chromatografii na silikagéli s hexánom a etylacetátom (1:1), čím sa získa výťažok metylesteru kyseliny N²-[2-(CBZ-amino)-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(BOC-amino)propiónovej v podobe bielej peny s teplotou topenia 100 až 101°C.

Zmes skôr uvedeného produktu (2,14 g, 4,90 mmol) a 10% paládia na uhlí (0,27 g) v etanole (50 ml) sa hydrogenuje za tlaku 45 psi (310 kPa) v Parrovej banke počas 4 hodín. Zmes sa filtruje cez dosku z Celite a koncentruje vo vákuu, čím vznikne hydrochlorid metylesteru kyseliny N²-[2-amino-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(BOC-amino)propiónovej v podobe oleja.

Roztok skôr uvedeného produktu (2,28 g, 8,09 mmol), diizopropylaminovej soli kyseliny (R)-2-bróm-3-metylbutánovej (2,16 g, 7,13 mmol), EDCI (1,43 g, 7,49 mmol) a HOAT (1,15 g, 8,52 mmol) v metylénchloride (75 ml) sa pri izbovej teplote mieša počas 16 hodín. Reakčná zmes sa odparí do sucha a rezíduum sa vloží do etylacetátu. Etylacetátový roztok sa premyje vodou, nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a solankou, a potom suší pomocou bezvodého síranu horečnatého a koncentruje vo vákuu. Výsledný olej sa podrobí chromatografii na silikagéli s hexánom a etylacetátom (40:60) a vznikne metylester kyseliny N²-[2-[(R)-2-bróm-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(BOC-amino)propiónovej v podobe bielej peny.

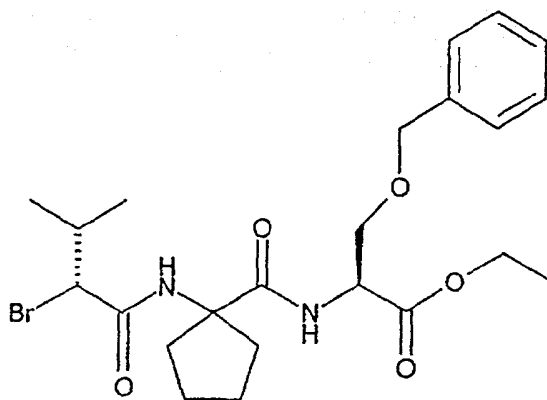
Zmes skôr uvedeného produktu (1,31 g, 2,82 mmol) a trioctanu draselného (1,28 g, 11,2 mmol) v tetrahydrofuráne (50 ml) sa mieša pri izbovej teplote počas 4 hodín a zriedi etylacetátom. Zmes sa premyje vodou, nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu

sodného, soľankou, a potom sa suší pomocou síranu horečnatého. Reakčná zmes sa koncentruje do sucha vo vákuu a výsledný olej sa podrobí chromatografii na silikagéli s hexánom a etylacetátom (40:60) a získa sa metylester kyseliny N-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-(S)-2-amino-3-(BOC-amino)propiónovej.

Roztokom skôr uvedenej zlúčeniny (1,01 g, 2,19 mmol) v 50 ml metylénchloridu sa asi 5 minút prebubláva plynň chlorovodík, zmes sa mieša počas 3 hodín pri izbovej teplote a potom sa koncentruje vo vákuu a získa sa hydrochlorid metylesteru kyseliny N²-[2-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-(S)-2,3-diaminopropiónovej.

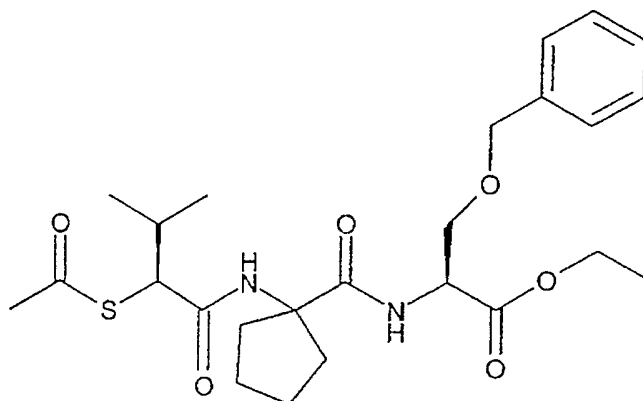
Príklad 5

K roztoku kyseliny 1-[(R)-2-bróm-3-metylbutanoylamino]cyklopentánkarboxylovej (1 g, 3,42 mmol), hydrochloridu etylesteru O-benzyl-L-serínu (0,89 g, 3,42 mmol), dicyklohexylkarbodiimidu (0,7 g, 3,42 mmol) a 1-hydroxy-7-azabenzotriazolu (0,47 g, 3,42 mmol) v metylénchloride sa pridá trietylamin (0,48 ml, 3,42 mmol). Zmes sa mieša počas 24 hodín a potom sa premyje soľankou a koncentruje vo vákuu, čím sa získa svetlo žltý olej. Rezíduum sa čistí flash chromatografiou (silikagél, hexán/etylacetát) a vznikne etylester N-[1-(R)-2-bróm-3-metylbutanoylamino]cyklopentánkarbonyl]-O-benzyl-L-serínu vzorca



Bromozlúčenina (0,7 g, 1,41 mmol) sa rozpustí v tetrahydro-

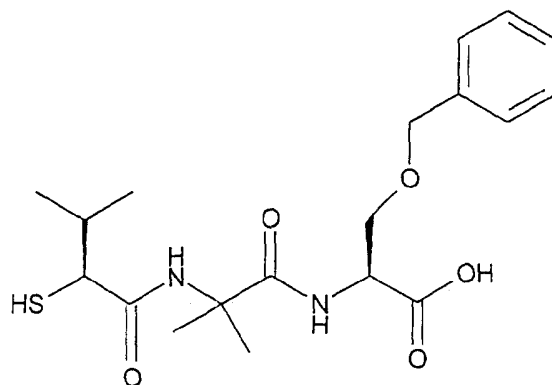
furáne (50 ml) a pridá sa tiooctan draselný (0,19 g, 1,69 mmol). Zmes sa mieša pri izbovej teplote počas 18 hodín a potom sa zriedi etylacetátom a premyje solankou, suší sa pomocou síranu horečnatého a koncentruje sa vo vákuu, čím vzniká žltý olej. Surový materiál sa čistí flash chromatografiou (silikagél, hexán/etylacetát) a získa sa polopevná látka, ktorá sa tritureje hexánom, čím sa získa výťažok etylesteru N-[1-[(S)-2-acetyltio-3-metylbutanoylamino]cyklopentánkarbonyl]-O-benzyl-L-serínu vzorca



Východisková látka v podobe 1-[(R)-2-bróm-3-metylbutanoylamino]cyklopentánkarboxylovej kyseliny sa v podstate pripraví spôsobom opísaným v dokumente WO 99/55726 kondenzáciou diizopropylaminovej soli kyseliny (R)-2-bróm-3-metylbutánovej (pripravejnej z L-valínu) s hydrochloridom metylesteru cykloleucínu.

Príklad 6

- (a) N-[2-[(S)-2-merkapt-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serín

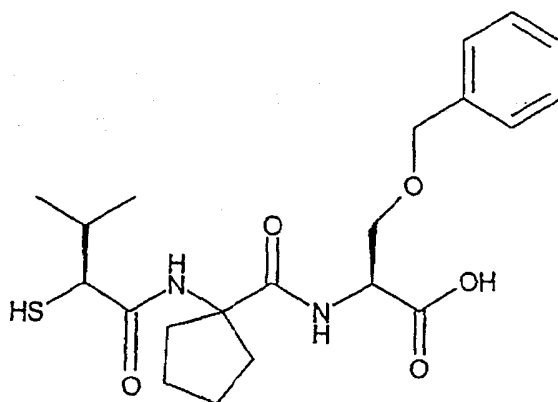


K roztoku S-acetyletylesteru z príkladu 1 (0,47 g, 1 mmol) v metanole (10 ml) sa pridá 1N hydroxid sodný (5,0 ml, 5 mmol). Zmes sa mieša pri izbovej teplote počas 4 hodín, okyslí 1N HCl na pH 1 a potom koncentruje vo vákuu. K rezíduu sa pridá etylacetát. Zmes sa premyje 1N NaOH. Kombinovaná vodná fáza sa potom okyslí a extrahuje etylacetátom. Organická fáza sa premyje solankou, suší pomocou síranu sodného a potom koncentruje vo vákuu. Trituráciou hexánom sa získa biela pena s teplotou topenia 57 až 70°C; $[\alpha]^{20}_D$ - 16,8° ($c = 1,032$, DMSO); MS ($M + H$): 397.

Podobne sa pripravujú nasledujúce zlúčeniny:

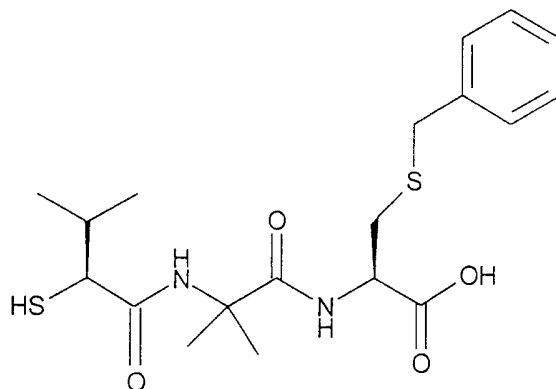
- (b) N-[1-[(S)-2-merkapto-3-metylbutanoylamino]cyklopentánkarbonyl]-O-benzyl-L-serín;

teplota topenia 132 až 136°C (kryštalizovaný zo systému hexán/terc-butylmetyléter)



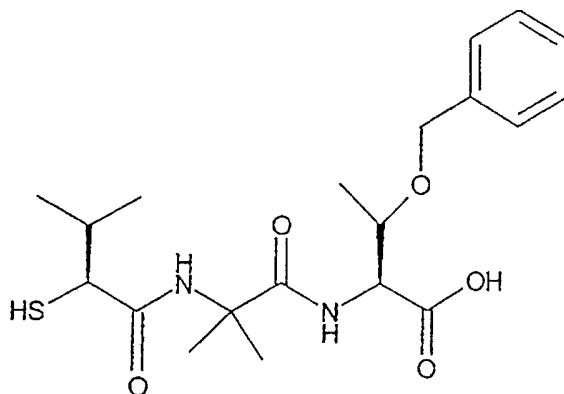
- (c) N-[2-[(S)-2-merkapto-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-S-benzyl-L-cysteín;

teplota topenia 81 až 87°C; $[\alpha]^{20}_D - 37,87$ ($c = 0,545$, DMSO)



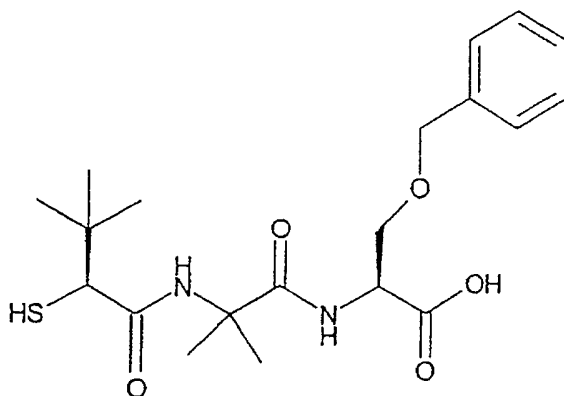
- (d) N-[2-[(*S*)-2-merkaptó-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-treonín;

teplota topenia 61 až 64°C



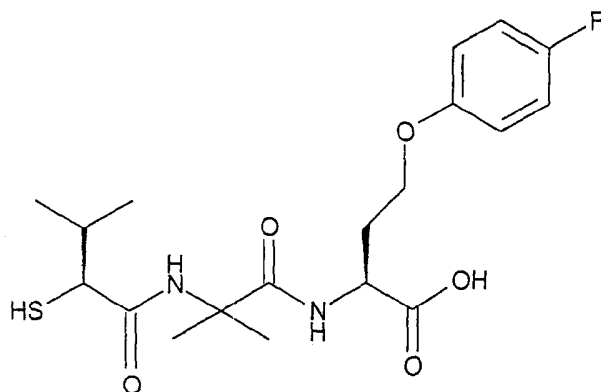
- (e) N-[2-[(*S*)-2-merkaptó-3,3-dimetylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serín;

teplota topenia 128 až 130°C; $[\alpha]^{20}_D - 2,46$ ($c = 1,06$, DMSO)



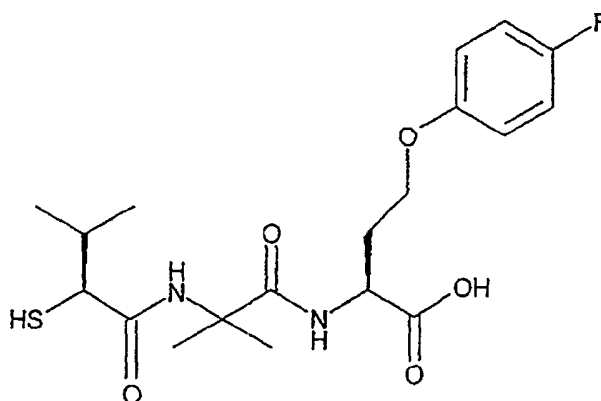
- (f) N-[2-[(*S*)-2-merkaptó-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(4-fluórbenzyl)-L-serín;

teplota topenia 50 až 54°C



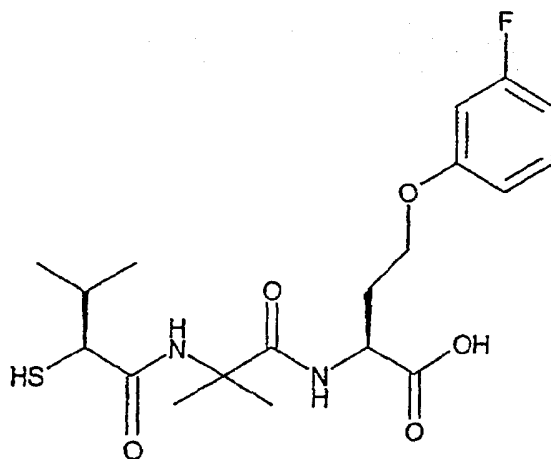
(g) N-[2-[(*S*)-2-merkapto-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(4-fluórfenyl)-L-homoserín;

teplota topenia 127 až 128°C



(h) N-[2-[(*S*)-2-merkapto-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(3-fluórfenyl)-L-homoserín;

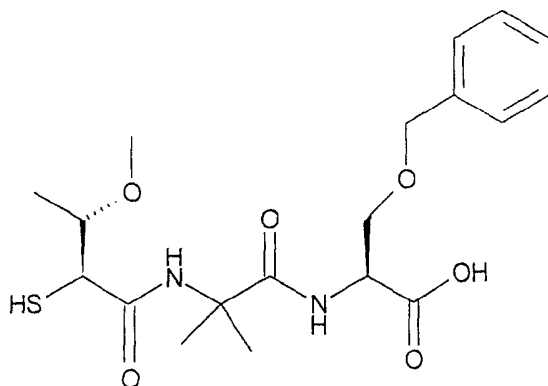
teplota topenia 50 až 56°C



(i) N-[2-[(*S*)-2-merkapto-3-metoxibutanoylamino]-2-metylpropionyl]-O-(4-fluórfenyl)-L-homoserín;

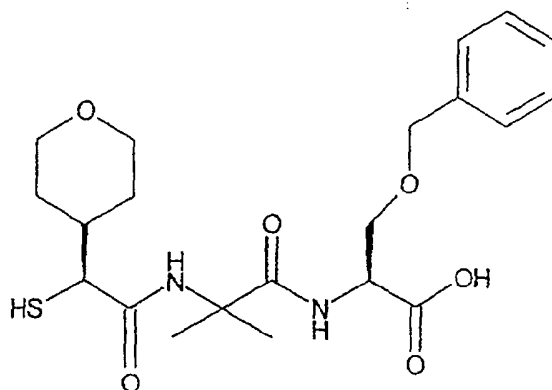
nyl]-O-benzyl-L-serín;

$[\alpha]^{20}_D + 18,85$ ($c = 0,997$, DMSO)



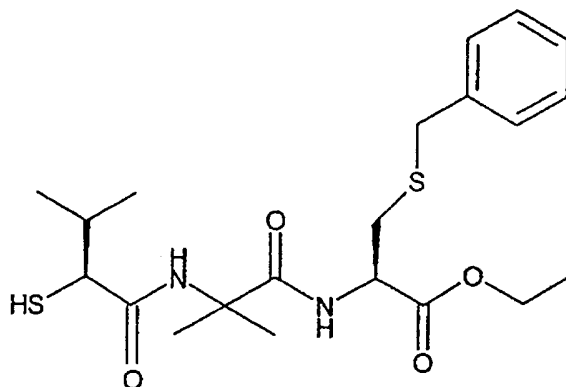
(j) N-[2-(*S*)-2-merkaptó-2-(4-tetrahydropyranyl)acetylaminó-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serín;

teplota topenia 184 až 189°C; $[\alpha]^{20}_D -24,94$ ($c = 1,013$, DMSO)



Príklad 7

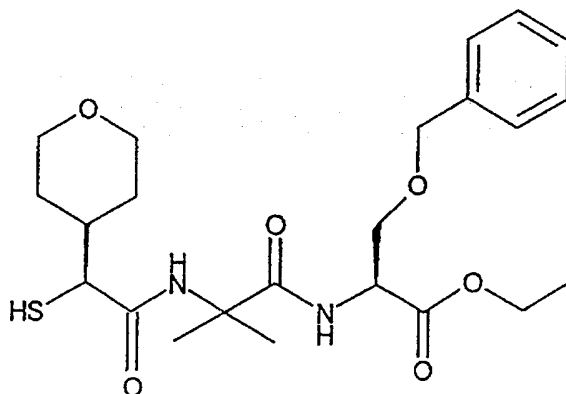
(a) etylester N-[2-(*S*)-2-merkaptó-3-metylbutanoylamino]-2-metylpropionyl]-*S*-benzyl-L-cysteínu



Za argónovej atmosféry sa tioacetylová zlúčenina z príkladu 2 (0,48 g, 1,0 mmol) rozpustí v absolútnom EtOH (5 ml) a podrobí sa pôsobeniu 1N NaOH (1,0 ml, 1,0 mmol). Zmes sa predtým, ako sa podrobí pôsobeniu 1N HCl až do dosiahnutia pH 3, mieša počas 4 hodín pri izbovej teplote. Zmes sa odparí s cieľom odstrániť väčšinu EtOH a vodné rezíduum sa extrahuje EtOAc (2 x 10 ml). Zmiešané extrakty sa premyjú H₂O (5 ml) a potom roztokom solanky (5 ml). Roztok sa suší pomocou Na₂SO₄, filtruje a koncentruje vo vákuu. Produkt solidifikuje zo systému *tert*-butylmetyléter/hexán a získa sa produkt s teplotou topenia 87 až 91°C.

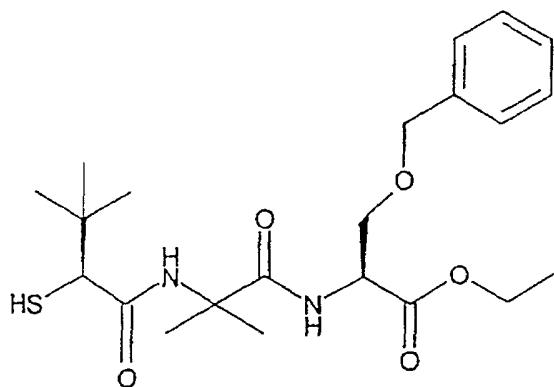
- (b) Podobne sa pripraví etylester N-[2-[(*S*)-2-merkaptó-2-[4-tetrahydropyranyl)acetylaminó]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu s teplotou topenia 85 až 93°C;

$$[\alpha]^{20}_D - 37,21^\circ \quad (c = 1,012, \text{ DMSO})$$



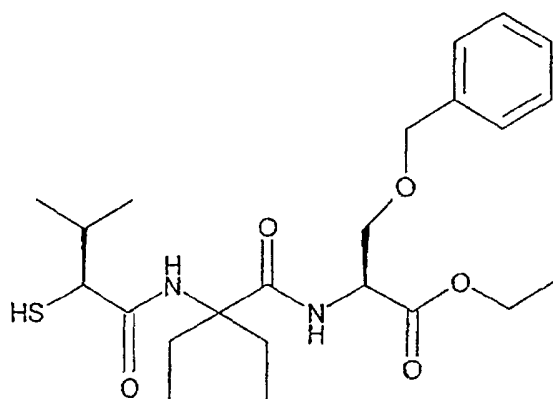
- (c) Podobne sa pripraví etylester N-[2-[(*S*)-2-merkaptó-3,3-dimetylbutanoylaminó]-2-metylpropionyl]-O-benzyl-L-serínu v podobe oleja;

$[\alpha]^{20}_D - 20,9^\circ$ ($c = 1,025$, DMSO)



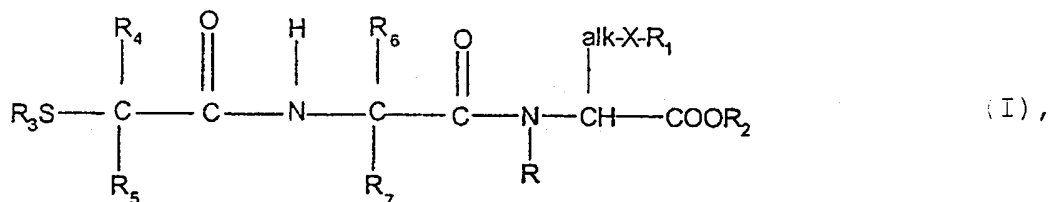
(d) Podobne sa pripraví etylester N-[2-[(*S*)-2-merkaptó-3-metylbutanoylamino]-2-etylbutanoyl]-O-benzyl-L-serínu;

$[\alpha]^{20}_D - 31,48^\circ$ ($c = 0,955$, CH₃OH)



P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Zlúčenina všeobecného vzorca I



v ktorom

R znamená atóm vodíka, nižšiu alkylovú skupinu, karbocyklickú skupinu alebo heterocyklickú aryl-nižšiu alkylovú alebo cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu;

R¹ znamená nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu alebo biarylovú skupinu; alebo

R¹ znamená (cykloalkyl, karbocyklický aryl, heterocyklický aryl alebo biaryl)-nižšiu alkylovú skupinu;

alk znamená nižšiu alkylénovú skupinu;

R³ znamená atóm vodíka alebo acylovú skupinu;

R⁴ znamená atóm vodíka, prípadne substituovanú nižšiu alkylovú skupinu, karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu, (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu, biarylovú skupinu, biaryl-nižšiu alkylovú skupinu, oxacykloalkylovú skupinu, tiacykloalkylovú skupinu, azacykloalkylovú skupinu alebo (oxacykloalkyl, tiacykloalkyl alebo azacykloalkyl)-nižšiu alkylovú skupinu;

R⁵ znamená atóm vodíka alebo nižšiu alkylovú skupinu; alebo

R⁴ a R⁵ spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú cykloalkylidénovú skupinu, benzo-kondenzovanú cykloalkylidénovú skupinu; alebo päť- alebo šesťčlennú (oxacykloalkylidénovú skupinu, tiacykloalkylidénovú skupinu alebo azacykloal-

kylidénovú skupinu), pričom je každá prípadne substituovaná nižšou alkylovou skupinou alebo aryl-nižšou alkylovou skupinou;

R^6 znamená nižšiu alkylovú skupinu, karbocyklickú alebo heterocyklickú aryllovú skupinu, (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu, biarylovú skupinu alebo biaryl-nižšiu alkylovú skupinu;

R^7 znamená nižšiu alkylovú skupinu, (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu alebo biaryl-nižšiu alkylovú skupinu; alebo

R^6 a R^7 spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú troj- až desaťčlennú cykloalkylidénovú skupinu, ktorá môže byť substituovaná nižšou alkylovou skupinou alebo aryl-nižšou alkylovou skupinou alebo môže byť nakondenzovaná na nasýtený alebo nenasýtený karbocyklický päť- až sedemčlenný kruh; alebo päť- alebo šesťčlennú (oxacykloalkylidénovú skupinu, tiacykloalkylidénovú skupinu alebo azacykloalkylidénovú skupinu), pričom každá môže byť prípadne substituovaná nižšou alkylovou skupinou alebo aryl-nižšiu alkylovú skupinu; alebo 2,2-norbonylidénovú skupinu;

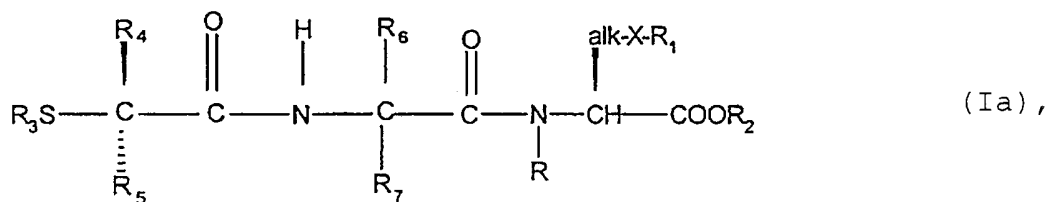
X znamená skupinu $-O-$, $-S(O)_n-$, $-NHSO_2-$ alebo $-NHCO-$;

n znamená 0, 1 alebo 2; a

$COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo karboxylovú skupinu derivatizovanú vo forme farmaceuticky prijateľného esteru;

alebo disulfidový derivát odvodený od uvedenej zlúčeniny, kde R^3 znamená atóm vodíka; alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, všeobecného vzorca Ia



alebo disulfidový derivát odvodený od uvedenej zlúčeniny, kde R^3 znamená atóm vodíka; alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

3. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená nižšiu alkylovú skupinu, cyloalkylovú skupinu obsahujúcu 5 alebo 6 uhlíkových atómov, karbocyklickú alebo heterocyklickú aryllovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; alk znamená nižšiu alkylénovú skupinu; X znamená skupinu $-O-$ alebo $-S(O)_n$, kde n znamená 0 alebo 2; R^3 znamená atóm vodíka alebo acylovú skupinu; R^4 znamená atóm vodíka, prípadne substituovanú nižšiu alkylovú skupinu, oxacykloalkylovú skupinu, oxacykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; R^5 znamená atóm vodíka; alebo R^4 a R^5 , spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú cykloalkylidénovú skupinu obsahujúcu 5 alebo 6 uhlíkových atómov; R^6 a R^7 znamenajú nižšiu alkylovú skupinu; alebo R^6 a R^7 , spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú päť- alebo šesťčlennú cykloalkylidénovú skupinu; $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo karboxylovú skupinu derivatizovanú vo forme farmaceuticky prijateľného esteru; alebo disulfidové deriváty odvodené od uvedenej zlúčeniny, kde R^3 znamená atóm vodíka; alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

4. Zlúčenina podľa nároku 2, kde R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená nižšiu alkylovú skupinu, cyloalkylovú skupinu obsahujúcu 5 alebo 6 uhlíkových atómov, karbocyklickú alebo heterocyklickú aryllovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; alk znamená nižšiu alkylénovú

skupinu; X znamená skupinu -O- alebo -S(O)_n, kde n znamená 0 alebo 2; R³ znamená atóm vodíka alebo acylovú skupinu; R¹ znamená atóm vodíka, prípadne substituovanú nižšiu alkylovú skupinu, oxacykloalkylovú skupinu, oxacykloalkyl-nižšiu alkylovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; R⁵ znamená atóm vodíka; alebo R⁴ a R⁵, spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú cykloalkylidénovú skupinu obsahujúcu 5 alebo 6 uhlíkových atómov; R⁶ a R⁷ znamenajú nižšiu alkylovú skupinu; alebo R⁶ a R⁷, spolu s atómom uhlíka, ku ktorému sú viazané, znamenajú päť- alebo šesťčlennú cykloalkylidénovú skupinu; COOR² znamená karboxylovú skupinu alebo karboxylovú skupinu derivatizovanú vo forme farmaceuticky prijateľného esteru; disulfidové deriváty odvodené od uvedenej zlúčeniny, kde R³ znamená atóm vodíka; alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ.

5. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R a R⁵ znamenajú atóm vodíka; R¹ znamená karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; R³ znamená atóm vodíka alebo prípadne substituovanú nižšiu alkanoylovú skupinu; R⁴ znamená nižšiu alkylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, tetrahydropyranylovú skupinu alebo nižšiu alkoxy-nižšiu alkylovú skupinu obsahujúcu vždy 1 až 4 uhlíkové atómy v každej z alkylových častí; R⁶ a R⁷ znamenajú obidva alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 uhlíkové atómy a sú identické; X znamená skupinu -O- alebo -S-; alk znamená metylénovú skupinu; COOR² znamená karboxylovú skupinu, nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu, (di-nižší alkylaminokarbonyl)-nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu alebo (morfolinokarbonyl, piperidinokarbonyl alebo pyrrolidinokarbonyl)-nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

6. Zlúčenina podľa nároku 2, kde R a R⁵ znamenajú atóm vodíka; R¹ znamená karbocyklickú alebo heterocyklickú arylovú skupinu alebo (karbocyklický alebo heterocyklický aryl)-nižšiu alkylovú skupinu; R³ znamená atóm vodíka alebo prípadne substituovanú nižšiu

alkanoylovú skupinu; R^4 znamená nižšiu alkylovú skupinu, cyklo-alkylovú skupinu, tetrahydropyranylovú skupinu alebo nižšiu alkoxy-nižšiu alkylovú skupinu obsahujúcu vždy 1 až 4 uhlíkové atómy v každej z alkylových častí; R^6 a R^7 znamenajú obidva alkylovú skupinu obsahujúcu 1 až 4 uhlíkové atómy a sú identické; X znamená skupinu -O- alebo -S-; alk znamená metylénovú skupinu; $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu, nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu, (di-nižší alkylaminokarbonyl)-nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu alebo (morfolinokarbonyl, piperidinokarbonyl alebo pyrrolidinokarbonyl)-nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

7. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená karbocyklickú arylovú skupinu alebo karbocyklickú aryl-nižšiu alkylovú skupinu, v ktorej karbocyklickú arylovú skupinu predstavuje fenylová skupina alebo fenylová skupina substituovaná jednou alebo dvoma skupinami zo súboru zahŕňajúceho hydroxyskupinu, nižšiu alkanoyloxyskupinu, nižšie alkylové skupinu, nižšie alkoxyskupiny, trifluórmetylové skupiny, trifluórmetoxyskupiny a atómy halogénu; R^3 znamená atóm vodíka alebo nižšiu alkanoylovú skupinu; R^4 znamená nižšiu alkylovú skupinu, 4-tetrahydropyranylovú skupinu alebo nižší alkoxy-nižšiu alkylovú skupinu obsahujúcu vždy 1 až 4 uhlíkové atómy v každej z alkylových častí; R^6 a R^7 znamenajú metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu alebo etylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

8. Zlúčenina podľa nároku 2, kde R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená karbocyklickú arylovú skupinu alebo karbocyklickú aryl-nižšiu alkylovú skupinu, v ktorej karbocyklickú arylovú skupinu predstavuje fenylová skupina alebo fenylová skupina substituovaná jednou alebo dvoma skupinami zo súboru zahŕňajúceho hydroxyskupiny, nižšie alkanoyloxyskupiny, nižšie alkylové

skupiny, nižšie alkoxy skupiny, trifluórmetylové skupiny, trifluórmetyloxy skupiny a atómy halogénu; R^3 znamená atóm vodíka alebo nižšiu alkanoylovú skupinu; R^4 znamená nižšiu alkylovú skupinu, 4-tetrahydropyranylovú skupinu alebo nižšiu alkoxy-nižšiu alkylovú skupinu obsahujúcu vždy 1 až 4 uhľikové atómy v každej z alkylových častí; R^6 a R^7 znamenajú metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu alebo etylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

9. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená fenylovú skupinu, fluórfenylovú skupinu, benzylovú skupinu alebo fluórbenzylovú skupinu; R^3 znamená atóm vodíka, nižšiu alkanoylovú skupinu alebo nižšiu alkanoylovú skupinu substituovanú nižšou alkoxy skupinou; R^4 znamená izopropylovú skupinu, terc-butylovú skupinu, 1-metoxyetylovú skupinu alebo 4-tetrahydropyranylovú skupinu; R^6 a R^7 znamená metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

10. Zlúčenina podľa nároku 2, kde R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená fenylovú skupinu, fluórfenylovú skupinu, benzylovú skupinu alebo fluórbenzylovú skupinu; R^3 znamená atóm vodíka, nižšiu alkanoylovú skupinu alebo nižšiu alkanoylovú skupinu substituovanú nižšou alkoxy skupinou; R^4 znamená izopropylovú skupinu, terc-butylovú skupinu, 1-metoxyetylovú skupinu alebo 4-tetrahydropyranylovú skupinu; R^6 a R^7 znamená metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo nižšiu alkoxykarbonylovú skupinu; alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

11. Zlúčenina podľa nároku 10, kde R a R^5 znamenajú atóm vodíka; R^1 znamená benzylovú skupinu; R^3 znamená atóm vodíka, acetylovú

skupinu alebo metoxyacetylovú skupinu; R^4 znamená izopropylovú skupinu alebo terc-butylovú skupinu; R^6 a R^7 znamenajú metylovú skupinu; X znamená skupinu -O-; alk znamená metylénovú skupinu; a $COOR^2$ znamená karboxylovú skupinu alebo etoxykarbonylovú skupinu; alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

12. Spôsob inhibície angiotenzín konvertujúceho enzýmu aj neutrálnej endopeptidázy u cicavcov, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa cicavcovi, ktorý ho vyžaduje, podáva účinné množstvo zlúčeniny podľa nároku 1.

13. Spôsob prevencie alebo liečenia kardiovaskulárnych ochorení u cicavcov, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa cicavcovi, ktorý ho vyžaduje, podáva účinné množstvo zlúčeniny podľa nároku 1.

14. Spôsob podľa nároku 12, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že je určený na liečenie hypertenzie, edému, retencie solí alebo kongestívneho srdcového zlyhania.

15. Farmaceutická kompozícia, v y z n a č u j ú c a s a t ý m, že obsahuje účinné množstvo zlúčeniny podľa nároku 1 v kombinácii s jedným alebo viacerými farmaceuticky prijateľnými nosičmi.