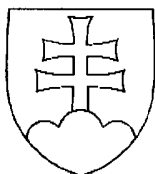


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

- (21) Číslo prihlášky: 984-91
 (22) Dátum podania: 09.04.91
 (31) Číslo prioritnej prihlášky: P 40 11 505.4
 (32) Dátum priority: 10.04.90
 (33) Krajina priority: DE
 (40) Dátum zverejnenia: 11.07.95
 (45) Dátum oznámenia o udelení vo Vestníku: 05.02.97
 (86) Číslo PCT:

(11) Číslo dokumentu:

278385

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.⁶:**C 07C 327/34**

A 61K 31/21

A 61K 31/195

A 61K 38/00

C 07K 5/06

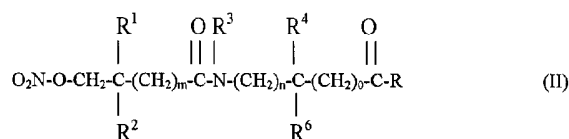
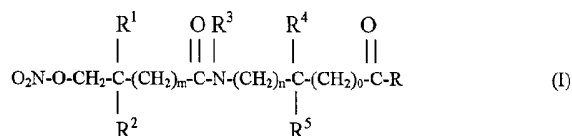
(73) Majiteľ patentu: SCHWARZ Pharma AG, Monheim/Rhld., DE;

(72) Pôvodca vynálezu: Sandrock Klaus, Dr., Langenfeld, DE;
 Noack Eike, Prof., Dr., Neuss, DE;
 Fritsch Edgar, Dr., Schwalmtal-Lüttelforst, DE;
 Kanzler Ralf, Leverkusen, DE;
 Feelisch Martin, Dr., Düsseldorf, DE;

(54) Názov vynálezu: **Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej, spôsob ich výroby, ich použitie a liečivo obsahujúce tieto látky**

(57) Anotácia:

Deriváty nitratoalkánkarboxylových kyselín so všeobecným vzorcom (I), najmä N-acylaminokyseliny, prípadne N-acylpeptidy. Spôsob ich výroby spočíva v reakcii zlúčeniny so všeobecným vzorcom (II), ktorá sa podrobí tioesterovej reakcii, pri ktorej sa zlučuje s aminokyselinami a/alebo N-acylaminokyselinami, peptidmi a/alebo N-acylpeptidmi s 2 až 5 peptidovými väzbami aminokyselinových zvyškov a potom sa v prípade potreby získaná zlúčenina prevedie na svoje farmakologicky nezávadné soli. Uvedené zlúčeniny sa používajú v liečivách pri aplikácii pri chorobách krvného obehu, vysokom krvnom tlaku, srdcových poruchách a na rozšírenie periférnych ciev.



Oblasť techniky

Vynález sa týka derivátov kyseliny nitratoalkánkarboxylovej, spôsobu ich výroby, ich použitia a liečiv obsahujúcich tieto látky.

Doterajší stav techniky

Organické nitráty (estery kyseliny dusičnej) sa osvedčili v terapii ochorení srdca.

Svoj účinok rozvíjajú tak odľahčením srdca znížením systolického a diastolického tlaku, ako aj zlepšením dodávky kyslíka pre srdce rozšírením koronárnych ciev.

V minulých rokoch sa však zistilo, že organické nitráty, ktoré sa doteraz v terapii používajú, ako glycerolnitrát (GTN), izosorbit-5-mononitrát alebo izosorbitdinitrát, vykazujú pri vysokom a kontinuálnom prísune do organizmu počas relatívne krátkeho času podstatné zoslabenie účinku na podklade nitrátovej tolerancie. Začiatkové experimenty poukazujú na to, že prítomnosť sulfhydrylových skupín potláča nitrátovú toleranciu a toleranciu, ktorá už nastala môžu oslabiť.

Mechanizmus vzniku tolerancie je v súčasnosti vysvetľovaný takto:

Podľa súčasného stupňa znalostí je farmakologický účinok organických nitrozlučenín závislý od prítomnosti cysteínu. S ním tvorí nitrát spoločný predstupeň, pri rozklade ktorého sa okrem iného uvoľňujú RO-radikály, ktoré aktivizujú cieľový enzým, rozpustnú guanylátcyklázu hladkých svalových buniek. Ďalšie následné reakcie, spustené tvorbou cGMP, vedú potom k relaxácii, prípadne k dilatácii ciev.

Pokiaľ ide o reaktívny a krátkodobý sa vyskytujúci, doteraz ešte hypotetický intermediálny produkt, môže ísť o tioester kyseliny dusičnej alebo tionitrát, intramolekulárnym prešmykom s ďalšími následnými reakciami, ktoré ešte neboli objasnené, sa konečne predpokladá tvorba nitrozotolu, z ktorého sa potom uvoľní oxid dusnatý, prípadne dusitanové ióny. Enzymatické odbúranie pomocou GSH-reduktázy by mohlo oproti tomu byť pre farmakologické pôsobenie bez významu, keďže vedie výlučne k tvorbe dusitanových iónov. Neenzymatické odbúranie vyžaduje teda cysteín, ako bolo opísané a je teda tým v závislosti od dávky vyčerateľnej (vyčerpanie zásoby SH-skupín), takže po určitom čase sa už nemôže tvoriť dostatok NO ako vlastného aktivátora guanylcyklázy a dochádza tak klinicky k zoslabeniu účinku.

V EP 89 116 700.9 sú uvedené špecificky syntetizované zlúčeniny, ktoré sa skladajú z nitratomastných kyselín (nitratoalkánkarboxylových kyselín) a síru obsahujúcich aminokyselín, prípadne peptidov. Prítomnosť sulfhydrylových skupín má nitrátovú toleranciu alebo už nastúpenú toleranciu potlačiť alebo zoslabiť.

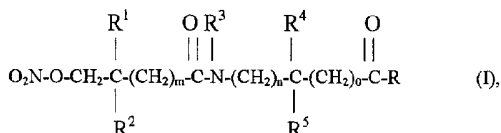
Okrem iného sa uvádzajú zlúčeniny, ktoré obsahujú aminokyseliny obsahujúce síru, ako je cysteín alebo metionín vo forme ich metylesterov, etylesterov alebo propylesterov. Nakoniec môžu byť sulfhydrylové skupiny cysteínu esterifikované nižšími alkanókarboxylovými kyselinami s 2 až 8 uhlíkovými atómami.

Aj keď uvedené zlúčeniny už majú cenné farmakologické vlastnosti s ohľadom na odstránenie nitrátovej tolerancie, prípadne na odstránenie alebo zoslabenie už nestálej tolerancie, sú zaťažené nevýhodami. Majú nízke teploty topenia, majú minimálnu rozpustnosť vo vode a spôsobujú ťažkosti vzhľadom na čistotu. Ďalej ich farmakologická účinnosť je relatívne malá.

Podstata vynálezu

Úlohou vynálezu je teda vyrobiť nové organické zlúčeniny, ktoré majú byť odborníkovi k dispozícii a ktoré by nevykazovali uvedené nedostatky a vykazovali by zvýšenú farmakologickú účinnosť, predovšetkým mohutnosť účinku.

Uvedená úloha bola podľa predloženého vynálezu vyriešená prípravou nových derivátov nitratoalkánkarboxylových kyselín so všeobecným vzorcom (I)



v ktorom znamená

R hydroxyskupinu, C₁₋₆-alkoxyskupinu, C₂₋₆-alkénoxyskupinu, di-C₁₋₆-alkylamino-C₁₋₆-alkoxyskupinu, acylamino-C₁₋₆-alkoxyskupinu, acyloxy-C₁₋₆-alkoxyskupinu, aryloxyskupinu, aryl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, substituovanú aryloxyskupinu alebo substituovanú aryl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, kde substituent je metylová skupina, atóm halogénu alebo metoxyskupina, aminoskupinu, C₁₋₆-alkylaminoskupinu, di-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, aryl-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylaminoskupinu alebo zvyšky aminokyselín cez peptidovú väzbu, vodíkový atóm, alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, substituovanú C₁₋₆-alkylovú skupinu, pričom substituent je atóm halogénu, hydroxylová skupina, C₁₋₆-alkoxyskupina, aryloxyskupina, aminoskupina, C₁₋₆-alkylaminoskupina, acylaminoskupina, acyloxyskupina, arylaminoskupina, merkaptoskupina, C₁₋₆-alkyltiolskupina alebo aryltiolskupina, ako R¹ vodíkový atóm alebo alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka,

R² vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R³ vodíkový atóm, C₁₋₆-alkylovú skupinu, fenylovú skupinu, metoxyfenylovú skupinu, fenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, metoxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, alkoxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, C₁₋₆-alkylaminoskupinu, acylamino-C₁₋₆-alkylovú skupinu, merkaptó-C₁₋₆-alkylovú skupinu alebo C₁₋₆-alkyltio-C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R⁵ S-acylzlúčeniny C₁₋₆-alkyltiolu, najmä ich glycintioestery, alanintioestery alebo leucintioestery, N-acylglycintioestery, N-acylalanintioestery alebo N-acylleucintioestery, tioestery peptidov Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly alebo N-acyl-Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-tioestery, pričom

R a R⁴ môžu byť navzájom spojené za vzniku alkylénového mostíka s 2 až 4 uhlíkovými atómami, alkylénového mostíka s 2 až 3 uhlíkovými atómami a atómom síry, alkylénového mostíka s 3 až 4 uhlíkovými atómami, obsahujúceho dvojitzú väzbu, alebo už uvedeného alkylénového mostíka, substituovaného hydroxylovou skupinou, C₁₋₆-alkoxylovou skupinou, C₁₋₆-alkylovou skupinou alebo di-C₁₋₆-alkylovou skupinou a

m, n, o znamená číslo 0 až 10,

ako aj ich fyziologicky nezávadných solí.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť aj vo forme ich adičných solí kyseliny.

Podľa ďalšej formy realizácie vynálezu majú súčasti nitrátomastnej kyseliny dĺžku reťazca C₂ až C₆. Môžu mať priamy reťazec alebo rozvetvený reťazec, môžu byť racemické alebo opticky izomérne.

Výhodne obsahujú deriváty nitratoalkánkarboxylovej kyseliny so všeobecným vzorcom (I) z radu aminokyselín, obsahujúcich síru aminokyseliny ako cysteín, metionín, homocysteín alebo -dimetylcysteín.

Podľa ďalšej výhodnej formy realizácie vynálezu majú aminokyseliny stereochemickú formu I.

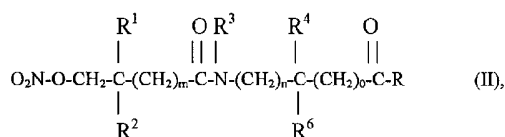
Aminokyseliny, ktoré obsahujú síru, môžu byť na C-konci esterifikované.

Podľa ďalšej výhodnej formy realizácie vynálezu sa aminokyseliny, ako cysteín, homocysteín, metionín a/alebo -dimetylcysteín vyskytujú vo forme metylesteru, etylesteru alebo propylesteru.

Mimoriadne výhodné v zmysle predloženého vynálezu sú:

N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylglucyl]-l-cysteinyester, N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanil]-l-cysteinyester ako aj N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylleucyl]-l-cysteinyester.

Zlúčeniny so všeobecným vzorcom (I) podľa predloženého vynálezu sa môžu vyrobiť podľa známych spôsobov tak, že sa zlúčenina so všeobecným vzorcom (II)



v ktorom znamenajú

R hydroxyskupinu, C₁₋₆-alkoxyskupinu, C₂₋₆-alkén-oxyskupinu, di-C₁₋₆-alkylamino-C₁₋₆-alkoxyskupinu, acylamino-C₁₋₆-alkoxyskupinu, aryloxyskupinu, aryl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, substituovanú aryloxyskupinu alebo substituovanú aryl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, kde substituent je metylová skupina, atóm halogénu alebo metoxyskupina, aminoskupinu, C₁₋₆-alkylaminoskupinu, di-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, aryl-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylaminoskupinu alebo aminokyselinové zvyšky cez peptidovú väzbu,

R¹ vodíkový atóm, alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, alebo substituovanú C₁₋₆-alkylovú skupinu, pričom substituent je atóm halogénu, aryloxyskupina, aminoskupina, acylaminoskupina, acyloxyskupina, arylaminoskupina, merkaptoskupina, C₁₋₆-alkyltioskupina alebo aryltioskupina,

R² ako R¹ vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R³ vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R⁴ vodíkový atóm, C₁₋₆-alkylovú skupinu, fenylovú skupinu, metoxyfenylovú skupinu, fenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, metoxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, alkoxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, C₁₋₆-alkylaminoskupinu, C₁₋₆-acylaminoalkylovú skupinu, merkaptó-C₁₋₆-alkylovú skupinu alebo C₁₋₆-alkyltio-C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R a R⁴ môžu byť vzájomne spojené za tvorby esteru

alebo amidu a

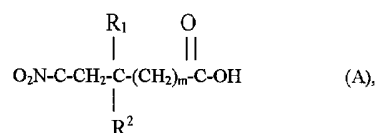
R³ a R⁴ môžu byť navzájom spojené za tvorby alkylénového mostíka s 2 až 4 uhlíkovými atómami, alkylénového mostíka s 2 až 3 uhlíkovými atómami a atómom síry, alkylénového mostíka s 3 až 4 uhlíkovými atómami, obsahujúceho dvojitz väzbu, alebo uvedeného alkylénového mostíka, substituovaného hydroxylovou skupinou, C₁₋₆-alkoxyskupinou alebo di-C₁₋₆-alkoxyskupinou,

R⁶ C₁₋₆-alkyltiol a

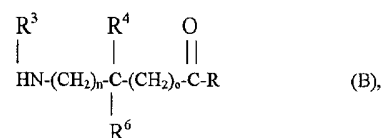
m, n, o majú už uvedený význam,

podrobi známej tioesterovej zlučovacej reakcii s aminokyselinami, 2-acylamino-kyselinami, peptidmi alebo 2-acyl-peptidy s 2 až 5 peptidovými väzbami aminokyselinových zvyškov. Zlúčeniny so všeobecným vzorcom (II) sa môžu pripraviť postupom opísaným v EP 89 116 700.9.

Podľa toho je možné použiť nitrátomastné kyseliny so všeobecným vzorcom (A)



v ktorom majú R¹, R² a m už uvedený význam, vo forme ich voľných kyselín, reaktívnych halogenidov kyselín, azidov, esterov a anhydridov kyselín a nechať ich reagovať so zlúčeninou so všeobecným vzorcom (B)



v ktorom R, R³, R⁴, R⁶, n a o majú už uvedený význam, obsahujúcou aminokyseliny a/alebo peptidy, za tvorby zlúčenín so všeobecným vzorcom (II).

Reaktívne deriváty nitratoalkánkarboxylových kyselín, ktoré sa môžu podľa spôsobu používať, ako napríklad: halogenidy kyselín, anhydridy kyselín, aktivované amidy a aktivované estery. Výhodné sú chloridy kyseliny, azidy kyseliny, symetrické anhydridy kyseliny, aktivované estery a zmesové anhydridy s organickými a anorganickými kyselinami.

Kondenzačné reakcie nitratoalkánkarboxylovej kyseliny s aminoskupinou aminokyseliny sa môžu uskutočňovať aj v inertnom rozpúšťadle a v prítomnosti prostriedku podporujúceho kondenzáciu, ktorý podporuje vytvorenie väzby amidu kyseliny, ako napríklad karbodiimidu, N, N'-dicyklohexylkarbodiimidu alebo podobných karbodiimidov, iminovej zlúčeniny, ako difenylketén-N-cyklohexyliminu alebo pentametyléketén-N-cyklohexyliminu, alebo fosfátu, alebo fosfinu ako trietylfosfitu, etylpolyfosfátu alebo izopropylpolyfosfátu, počas 1 až 48 hodín pri teplotách -10 °C až pri teplote spätného toku rozpúšťadla.

Aminokyseliny, ktoré sa môžu pri spôsobe používať ako glycín, N-acetylglucín, alanín, N-acetylalanín, arginín, N-acetylarginín, N-&-benzoylarginín, cysteín, N-acetylcysteín, N,S-dipivaloylcysteín, cysteín, N,N-diacetylcysteín, leucín, N-acetylleucín, lyzín, N-&-a-

cetyllyzín, N-acetyllyzín, N-&-diacetyllyzín, prolín, N-acetylprolín, serín, N-acetylserín, O-acetylserín, N,O-diacetylserín, metionín, N-benzylmetionín, fenylylalanín, N-benzylfenylalanín, N-acetylphenylalanín, asparagín, N-acetylasparagín, N-acetylasparagínmonoester, N-acetylasparagín, monomylester N-acetylglutaminové kyseliny.

Aby sa previedli zlúčeniny so všeobecným vzorcom (I) na ich farmakologicky nezávadné soli, sa tieto zlúčeniny nechajú reagovať, výhodne v organickom alebo vodnom organickom rozpúšťadle, s ekvivalentným množstvom anorganickej alebo organickej kyseliny. Do úvahy prichádza kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina dusičná, kyselina fosforečná, kyselina sírová, kyselina mravčia, kyselina octová, kyselina propiónová, kyselina oxalová, kyselina fumárová, kyselina maleinová, kyselina jantárová, kyselina adipová, kyselina benzoová, kyselina salicylová, kyselina O-acetoxybenzoová, kyselina škoricová, kyselina naftoová, kyselina manilová, kyselina citrónová, kyselina jablčná, kyselina vínna, kyselina asparagová, kyselina glutámová, kyselina metánsulfónová alebo kyselina p-toluénsulfónová.

Nové zlúčeniny podľa predloženého vynálezu so všeobecným vzorcom (I) a ich soli sa môžu aplikovať v kvapalnej alebo pevnej forme enterálne alebo parenterálne.

Na injekčné podanie prichádza do úvahy výhodne voda, ktorá obsahuje bežné prísady pre injekčné médiá, ako sú stabilizačné prostriedky, látky sprostredkujúce rozpustenie alebo pufr. Ako takéto prísady je možné uviesť vinanový alebo citrátový pufr, etylalkohol, komplexotvorné látky (ako je kyselina etyléndiamintetraoctová a jej netoxické soli), vysokomolekulárne polyméry (ako je kvapalný polyetylénoxid) na reguláciu viskozity a podobne. Ako pevné nosné látky je možné uviesť napríklad škroby, laktózu, manitol, metylcelulózu, mastenec, vysokodisperznú kyselinu kremičitú, vysokomolekulárne masťné kyseliny (ako je kyselina stearová), želatínu, agar-agar, fosforečnan vápenatý, stearát horečnatý, živočíšne a rastlinné tuky a pevné vysokomolekulárne polyméry (ako sú napríklad polyetylén glykoly). Prípravky vhodné na orálnu aplikáciu môžu podľa potreby obsahovať chuťové korigencie a sladidlá.

Podľa ďalšej realizácie vynálezu majú liečivá obsah jednej zlúčeniny podľa predloženého vynálezu a/alebo ich zmes.

Uvedené liečivá sa môžu aplikovať pri ochoreniach krvného obehu, napríklad ako koronárne dilatátory, ako prostriedky pri vysokom tlaku, srdcovej insuficiencii a pri rozšírení periférnych ciev a takisto mozgových a kardioidných ciev.

Farmaceutické prípravky obsahujúce dopredu vypočítané množstvo jednej alebo niekoľkých zlúčenín podľa predloženého vynálezu, sa môžu aplikovať raz denne vo forme retardovaných prípravkov alebo niekoľkokrát denne v regulovaných intervaloch (dvakrát až trikrát denne). Množstvo účinnej látky, aplikované denne, je zvyčajne 20 až 300 mg, vziať na telesnú hmotnosť 75 kg. Vo forme injekcii sa môžu zlúčeniny podľa predloženého vynálezu podávať 1 až 8-krát denne, prípadne formou trvalej infúzie. Normálne stačí množstvo 5 až 200 mg na deň.

Typická tableta môže mať toto zloženie:

- | | | |
|----|---|-------|
| 1. | N-nitratopivaloyl-S-(N-acetylglucyl)-L-cysteinylylester | 25 mg |
| 2. | škrob U. S. P. | 57 mg |

- | | | |
|----|-------------------|-------|
| 3. | laktóza U. S. P. | 73 mg |
| 4. | mastenec U. S. P. | 9 mg |
| 5. | kyselina stearová | 6 mg |

Látky 1., 2. a 3. sa preosejú, granulujú, homogénne sa zmiešajú s látkami 4. a 5. a potom sa zmes tabletuje.

Nasledujúce príklady realizácie vynálezu bližšie vysvetľujú bez toho, aby ho obmedzovali.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Príprava N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylglucyl]-L-cysteinylylesteru

48 g (0,41 mol) N-acetylglucínu sa pri miešaní pri teplote miestnosti rozmieša v 300 ml metylénchloridu (CH_2Cl_2) a ochladí sa na teplotu 10 °C. Pri miešaní sa pridá roztok 109,8 g (0,373 mol) N-nitratopivaloyl-L-cysteinylylesteru v 300 ml metylénchloridu, pričom prebieha slabá exotermná reakcia. Reakčná zmes sa pri miešaní ochladí na teplotu 5 °C a pomaly sa pri miešaní prikvapká roztok 84,6 g (0,41 mol) dicyklohexylkarbodiimidu (DDC) v 200 ml metylénchloridu, pričom sa teplota ustáli v rozmedzí 5 až 10 °C. Po zahriatí na teplotu miestnosti sa reakčná zmes pri tejto teplote mieša počas štyroch dní. Dicyklohexylkarbodiimidomochovina sa odsaje a dvakrát sa premyje vždy 100 ml metylénchloridu.

Spojené metylénchloridové fázy sa postupne premyjú vždy raz 200 ml 9 % roztoku hydrogenuhlčitanu sodného, 300 ml 1 N kyseliny chlorovodíkovej a 300 ml destilovanej vody. Nakoniec sa metylénchloridové fázy vysušia bezvodým síranom sodným a na rotačnej vákuovej odparke (Rotavapor^R, Büchi) sa zahustia do konštantnej hmotnosti.

Výťažok je 162,9 g (teoreticky 146,74 g) N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylglucyl]-L-cysteinylylesteru vo forme svetložltého oleja.

169,2 g N-nitratopivaloyl-3-[N-acetylglucyl]-L-cysteinylylesteru sa pri teplote miestnosti rozpustí v 470 ml etylacetátu. Po pätnástiminútovom miešaní pri teplote miestnosti sa nerozpustená biela zrazenina odfiltruje. Čirý svetložltý filtrát sa pri teplote miestnosti pri miešaní pomaly zmieša s 390 ml n-hexánu.

Do získaného roztoku sa pridajú očkovacie kryštály a táto zmes sa mieša pri teplote miestnosti cez noc. Vytvorené kryštály sa odsajú a dvakrát sa pri teplote miestnosti premyjú vždy 100 ml zmesi zloženej z 20 ml etylacetátu a 80 ml n-hexánu.

Kryštály sa vysušia pri teplote miestnosti vo vákuovej sušiarňi, vákuum 267 Pa, až do konštantnej hmotnosti.

Výťažok je 85,4 g (teoreticky 146,74 g) N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylglucyl]-L-cysteinylylesteru. Teplota topenia: 71,6 °C.

Príklad 2

Príprava N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanil]-L-cysteinylylesteru

53,8 g (0,41 mol) N-acetylglucínu sa pri miešaní pri teplote miestnosti rozmieša v 300 ml metylénchloridu (CH_2Cl_2) a táto zmes sa ochladí na teplotu 10 °C. Pri miešaní sa pridá roztok 109,8 g (0,373 mol) N-nitratopivaloyl-L-cysteinylylesteru v 300 ml metylénchloridu, pri slabšej exotermnej reakcii. Reakčná zmes

sa pri miešaní ochladi na teplotu 5 °C a pomaly sa prikvapká roztok 84,6 g (0,41 mol) dicyklohexylkarbodiimidu (DDC) v 200 ml metylénchloridu, pričom sa teplota reakčnej zmesi ustáli v rozmedzí 5 až 10 °C. Po zahriatí na teplotu miestnosti sa reakčná zmes mieša počas štyroch dní. Dicyklohexylkarbodiimidomochovina sa odsaje a dvakrát sa premyje vždy 100 ml metylénchloridu.

Spojené metylénchloridové fázy sa postupne premyjú vždy raz 200 ml 9 % roztoku hydrogénuhličitanu sodného, 300 ml 1 N kyseliny chlorovodíkovej a 300 ml destilovanej vody. Nakoniec sa metylénchloridové fázy vysušia pomocou bezvodého síranu sodného a na rotačnej vákuovej odparke (Rotavapor^R, Büchi) sa zahustia až do konštantnej hmotnosti.

Výťažok je 160,5 g (teoreticky 151,84 g) N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru vo forme svetložltého oleja.

160, 5 g N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru sa pri teplote miestnosti rozpustí v 345 ml etylacetátu. Po pätnásťminútovom miešaní pri teplote miestnosti sa nerozpustená biela zrazenina odfiltruje. Čtyri svetložltý filtrát sa pri teplote miestnosti pri miešaní pomaly zmieša s 345 ml n-hexánu.

Do uvedeného roztoku sa pridajú očkovacie kryštály a zmes sa mieša pri teplote miestnosti cez noc. Vylúčené kryštály sa odsajú a dvakrát sa pri teplote miestnosti premyjú vždy 100 ml zmesi zloženej z 20 ml etylacetátu a 80 ml n-hexánu.

Kryštály sa vysušia pri teplote miestnosti vo vákuovej sušiarňi, vákuum 267 Pa, až do konštantnej hmotnosti.

Výťažok je 78,2 g (teoreticky 151,84 g) N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru. Teplota topenia: 76,6 °C

Príklad 3

Príprava N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylleucyl]-L-cysteinyylesteru

0,02 mol ($\approx$ 6 g) cysteinyylesteru kyseliny nitratopivalovej sa rozpustí v 100 ml dichlórmetánu. Pri teplote 10 °C a pri prívode dusíka sa pomaly pridá 0,03 mol ($\approx$ 6,15 g) N-acetylleucínu a 0,1 g dimetylaminopyridínu (DMAP). Potom sa k reakčnej zmesi prikvapká 0,03 mol ($\approx$ 6,15 g) dicyklohexylkarbodiimidu (DCC) rozpusteného v 80 ml dichlórmetánu a potom sa reakčná zmes mieša cez noc pri teplote miestnosti.

Spracovanie:

Usadenina sa odsaje. Roztok sa po sebe extrahuje ekvivalentným množstvom 0,1 N roztokom kyseliny chlorovodíkovej, nasýteného roztoku hydrogénuhličitanu a destilovanej vody. Potom sa rozpúšťadlo odstráni na rotačnej odparke (Rotavapor^R, Büchi). Zvyšší sa 10 g olejovitého zvyšku.

Rekryštalizácia:

10 g uvedenej olejovitej látky sa pri miernom zahriatí rozpustí v zmesi 45 ml etylalkoholu a 40 ml destilovanej vody. Roztok sa nechá cez noc vykryštalizovať v chladničke. Kryštály sa odsajú a usušia vo vákuovej sušiarňi.

Štruktúra bola potvrdená hmotnostným spektrom. Teplota topenia: 91,4 °C

HPLC chromatografia: 98,7 %

Výťažok: 5 g = 0,012 mol = 57,4 % teórie.

Farmakologické údaje:

Hemodynamický profil N-nitratopivaloyl-S-[N-a-

cetylalanyl]-L-cysteinyylesteru a N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru, t. j. zlúčenín podľa vynálezu, vybraných ako príklad, bol skúmaný pomocou priameho porovnávania s klasickými nitrátmi na bdiacom psovi (Beagle dogs). Tak perorálne, ako aj intravenózne aplikácie oboch uvedených zlúčenín (rozmedzie dávok: 0,01 až 1 mol/kg i. v. prípadne 1 až 10 mol/kg p. o.) vedie k zníženiu priemerného arteriálneho a venózneho tlaku s predominantným účinkom na cievy v závislosti od dávky. Zvýšilo sa rozšírenie arteriálnych ciev, zatiaľ čo výkon srdca sa nezmenil. Zistený čas účinku charakterizoval obidve zlúčeniny ako nitráty s dlhším časom účinku.

Zistené krivky závislosti dávky a účinku uvedených zlúčenín, GTN (glyceryltrinitráta) a IS-5-N izosorbit-5-mononitrátu) ukázali presvedčivo, že obidve nové zlúčeniny sú in vivo účinnejšie ako najúčinnější klasický nitrát vzhľadom na zníženie arteriálneho a centrálne venózneho krvného tlaku.

Nasledujúce dáta ukazujú účinok i. v. aplikácie 1,7 mol/kg dvoch vybraných zlúčenín podľa vynálezu, pokiaľ ide o systolický arteriálny a centrálne venózny krvný tlak bdiacich Beagle psov (n = 15).

Zlúčenina	SAP _{max}	CVP _{max}
N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru	-23 3	-46 4
N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru	-21 2	-46 4
GTN	-25 3	-35 4
IS-5-N	-6 1	-16 6

SAF = systolický arteriálny tlak
CVP = centrálny venózny tlak

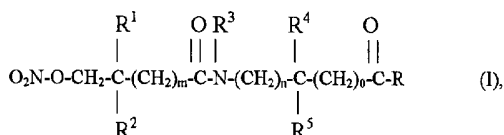
Účinok relaxujúci cievy, napríklad vybraných zlúčenín podľa vynálezu, N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru a N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru oproti klasickým nitrátom sa dal potvrdiť aj in vitro na izolovaných prstencoch aorty potkana.

Okrem toho boli dotyčné nitráty zaznamenané pri izometrickej registrácii sily krivky účinku koncentrácie na 4 až 5 mm širokých a dopredu 2 g zaťažných a 2 x 10⁻⁷ M fenylerferinom dopredu kontrahovaných aortálnych prstencoch v Krebs-Henseleitovom roztoku vytemperovanom na 37 °C pod atmosférou kyslíka. Nasledujúce dáta ukazujú stredné hodnoty týchto kriviek účinku koncentrácie odvodených z koncentrácií (EC₅₀), ktoré vyvolávajú súčasne polomaximálnu relaxáciu dopredu kontrahovaných aortálnych prstencov (n = 5).

Zlúčenina	EC ₅₀ (mol/l)
N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru	8,3 x 10 ⁻⁷
N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanyl]-L-cysteinyylesteru	8,3 x 10 ⁻⁷
GTN	2,8 x 10 ⁻⁸
IS-5-N	2,1 x 10 ⁻⁴

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej so všeobecným vzorcom (I)



v ktorom znamená

R hydroxyskupinu, C₁₋₆-alkoxyskupinu, C₂₋₆-alkénoskupinu, di-C₁₋₆-alkylamino-C₁₋₆-alkoxyskupinu, metoxyfenylóvú skupinu, fenyl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, substituovaný fenyl alebo substituovanú fenyl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, kde substituent je metyl, halogén, napríklad chlór, bróm, fluór alebo metoxyskupina, aminoskupinu, C₁₋₆-alkylaminoskupinu, di-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, fenyl-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylaminoskupinu alebo zvyšky glycinu, leucínu, alanínu, cysteínu cez peptidovú väzbu,

R¹ vodíkový atóm, alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, substituovanú C₁₋₆-alkylovú skupinu, pričom substituent je halogén, napríklad chlór, bróm alebo fluór, hydroxyskupina, C₁₋₆-alkoxyskupina, fenyl-oxyskupina, NH₂, C₁₋₆-alkylaminoskupina, merkaptoskupina, C₁₋₆-alkyltioskupina,

R² ako R¹ vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R³ vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R⁴ vodíkový atóm, C₁₋₆-alkylovú skupinu, fenyl, metoxyfenyl, fenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, metoxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, alkoxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, amino-C₁₋₆-alkylovú skupinu, merkaptó-C₁₋₆-alkylovú skupinu, alebo C₁₋₆-alkyltio-C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R⁵ S-acylzlúčeniny merkaptometylu, merkaptoetylú alebo merkaptopropylú, najmä ich glycintioestery, alanintioestery alebo leucintioestery, ako napríklad N-acetylglucintioestery, N-acetylalanintioestery alebo N-acetylleucintioestery, tioestery pentapeptidu Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly alebo N-acetyl-Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-tioestery,

R a R⁴ môžu byť navzájom spojené za vzniku alkylénového mostíka s 2 až 4 uhlíkovými atómami, alkylénového mostíka s 2 až 3 uhlíkovými atómami a atómom síry, alkylénového mostíka s 3 až 4 uhlíkovými atómami, obsahujúceho dvojitzú väzbu, alebo uvedeneho alkylénového mostíka, substituovaného hydroxyskupinou, C₁₋₆-alkoxyskupinou, C₁₋₆-alkylovou skupinou alebo di-C₁₋₆-alkylovou skupinou a

m, n, o znamená číslo 0 až 10,

ako aj ich fyziologicky nezávadné soli.

2. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že sú vo forme svojich adičných solí s kyselinou.

3. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 1 a 2, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že ich súčasti nitratomastné kyseliny majú dĺžku reťazca 2 až 6 atómov uhlíka, pričom tieto reťazce sú lineárne, rozvetvené a kyselina je racemická alebo opticky izoména.

4. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 1 a 3, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že aminokyseliny obsahujúce síru sú výhodne cysteín,

metionín, homocysteín alebo -dimetylcysteín.

5. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 1 a 4, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že aminokyseliny sa vyskytujú v stereochemickej L-forme.

6. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 1 a 5, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že aminokyseliny obsahujúce síru sú na O-konci zesterifikované.

7. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 1 a 6, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že aminokyseliny cysteín, homocysteín, dimetylcysteín a/alebo metionín sa vyskytujú ako metylester, etylester alebo propylester.

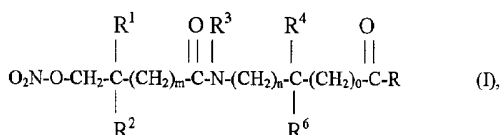
8. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 7, **v y z n a č u j ú c e s a t ý m**, že predstavujú

a) etylester N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylglucyl]-l-cysteín

b) etylester N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylalanil]-l-cysteín

c) etylester N-nitratopivaloyl-S-[N-acetylleucyl]-l-cysteín.

9. Spôsob výroby derivátov nitratoalkánkarboxylových kyselín so všeobecným vzorcom (I)



v ktorom znamená

R hydroxyskupinu, C₁₋₆-alkoxyskupinu, C₂₋₆-alkénoskupinu, di-C₁₋₆-alkylamino-C₁₋₆-alkoxyskupinu, metoxyfenylóvú skupinu, fenyl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, substituovaný fenyl alebo substituovanú fenyl-C₁₋₆-alkoxyskupinu, kde substituent je metyl, halogén, napríklad chlór, bróm, fluór alebo metoxyskupina, aminoskupinu, C₁₋₆-alkylaminoskupinu, di-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, fenyl-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylaminoskupinu alebo zvyšky glycinu, leucínu, alanínu, cysteínu cez peptidovú väzbu,

R¹ vodíkový atóm, alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, substituovanú C₁₋₆-alkylovú skupinu, pričom substituent je halogén, napríklad chlór, bróm alebo fluór, hydroxyskupina, C₁₋₆-alkoxyskupina, fenyl-oxyskupina, NH₂, C₁₋₆-alkylaminoskupina, merkaptoskupina, C₁₋₆-alkyltioskupina,

R² ako R¹ vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R³ vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

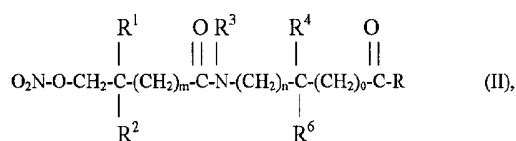
R⁴ vodíkový atóm, C₁₋₆-alkylovú skupinu, fenyl, metoxyfenyl, fenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, metoxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, amino-C₁₋₆-alkylovú skupinu, merkaptó-C₁₋₆-alkylovú skupinu alebo C₁₋₆-alkyltio-C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R⁵ S-acylzlúčeniny merkaptometylu, merkaptoetylú alebo merkaptopropylú, najmä ich glycintioestery, alanintioestery alebo leucintioestery, ako napríklad N-acetylglucintioestery, N-acetylalanintioestery alebo N-acetylleucintioestery, tioestery pentapeptidu Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly alebo N-acetyl-

Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-tioestery,
R a R⁴ môžu byť navzájom spojené za vzniku alkylénového mostíka s 2 až 4 uhlíkovými atómami, alkylénového mostíka s 2 až 3 uhlíkovými atómami a atómom síry, alkylénového mostíka s 3 až 4 uhlíkovými atómami, obsahujúceho dvojitú väzbu, alebo uvedené alkylénového mostíka, substituovaného hydroxyskupinou, C₁₋₆-alkoxy skupinou, C₁₋₆-alkylovou skupinou alebo di-C₁₋₆-alkylovou skupinou a
m, n, o znamená čísla 0 až 10,
ako aj ich fyziologicky nezávadných solí, **v y z n a - č u j ú c i s a t ý m**, že sa zlučenina so všeobecným vzorcom (II)

11. Použitie derivátov kyseliny nitratoalkánkarboxylovej na výrobu liečiv na profylaxiu srdcových chorôb obehového systému.

Koniec dokumentu



y ktorom znamená

R hydroxyskupinu, C₁₋₆-alkoxyskupinu, C₂₋₆-alkénoxy-
skupinu, di-C₁₋₆-alkylamino-C₁₋₆-alkoxyskupinu, me-
toxyfenylovú skupinu, feny-C₁₋₆-alkoxyskupinu,
substituovaný feny alebo substituovanú feny-C₁₋₆-
-alkoxyskupinu, kde substituent je metyl, halogén,
napríklad chlór, bróm, fluór alebo metoxyskupina,
aminoskupinu, C₁₋₆-alkylaminoskupinu, di-C₁₋₆-al-
kylaminoskupinu, feny-C₁₋₆-alkylaminoskupinu, hy-
droxy-C₁₋₆-alkylaminoskupinu alebo zvyšky amino-
kyseliny cez peptidovú väzbu,

R¹ vodíkový atóm, alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka, substituovanú C₁₋₆-alkylovú skupinu, pričom substituent je halogén, napríklad chlór, bróm alebo fluór, hydroxyskupina, C₁₋₆-alkoxyskupina, fenyloxy skupina, NH₂, C₁₋₆-alkylaminoskupina, merkaptoskupina, C₁₋₆-alkyltioksupina

R^2 ako R^1 vodíkový atóm alebo C_{1-6} -alkylovú skupinu,

R³ vodíkový atóm alebo C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R⁴ vodíkový atóm, C₁₋₆-alkylovú skupinu, fenyľ, metoxyfenyl, fenyľ-C₁₋₆-alkylovú skupinu, metoxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxyfenyl-C₁₋₆-alkylovú skupinu, hydroxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, alkoxy-C₁₋₆-alkylovú skupinu, amino-C₁₋₆-alkylovú skupinu, merkaptó-C₁₋₆-alkylovú skupinu alebo C₁₋₆-alkyltio-C₁₋₆-alkylovú skupinu,

R a R⁴ môžu byť navzájom spojené za vzniku alkylénového mostíka s 2 až 4 uhlíkovými atómami, alkylénového mostíka s 2 až 3 uhlíkovými atómami a atómom síry, alkylénového mostíka s 3 až 4 uhlíkovými atómami, obsahujúceho dvojitú väzbu, alebo uvedené alkylénové mostíka, substituované hydroxyskupinou, C₁₋₆-alkoxyskupinou, C₁₋₆-alkylovou skupinou alebo di-C₁₋₆-alkylovou skupinou.

R⁶ znamená C₁₋₆-alkyltiol, 55

podobí tioesterovej zlučovacej reakcii s aminokyselinami a/alebo N-acylaminokyselinami, peptidmi a/alebo N-acylpeptidmi s 2 až 5 peptidovými väzbami aminokyselinových zvyškov a potom sa v prípade potreby získaná zlúčenina prevedie na svoje farmakologicky nezávadné soli.

10. Deriváty kyseliny nitratoalkánkarboxylovej podľa nároku 1 až 8 na použitie ako liečivo.