

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

237327
(11) (B2)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 11 12 79
(21) (PV 1341-82)
(32) (31) (33) Právo přednosti od 11 12 78
(968249) Spojené státy americké
(40) Zveřejněno 31 08 84
(45) Vydáno 15 04 87

(51) Int. Cl.⁴
C 07 K 5/06
//A 61 K 37/02

(72)
Autor vynálezu

PATCHETT ARTHUR A., HARRIS ELBERT E., WYVRATT MATTHEW J.,
WESTFIELD, NEW JERSEY, TRISTRAM EDWARD W., WATCHUNG,
NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(73)
Majitel patentu

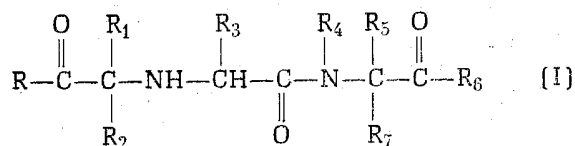
MERCK & CO., INC., RAHWAY, NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(54) Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů

1

2

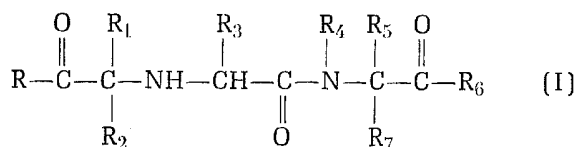
Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů o-
becného vzorce I



a jejich farmaceuticky vhodných solí a bio-
logicky účinného isomeru, spočívající v re-
akci aminu obecného vzorce II s ketonem
obecného vzorce III.

Látky vzorce I jsou použitelné jako inhi-
bitory konvertujícího enzymu a jako antihy-
pertensiva.

Vynález se týká způsobu přípravy karboxyalkyldipeptidů obecného vzorce I



kde

R a R₆ jsou stejné nebo rozdílné a znamenají hydroxyskupinu, alkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, dialkylaminoalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, acylaminoalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, acyloxyalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, aryloxykupinu s alespoň 6 atomy uhlíku, aralkyloxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, substituovanou aryloxykupinu s alespoň 6 atomy uhlíku nebo substituovanou aralkoxykupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, kde substituentem je methyl, halogen nebo methoxykupina, aminoskupina, alkylaminoskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, dialkylaminoskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, aralkylaminoskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku nebo hydroxyaminoskupinu,

R₁ je vodík, alkyl s 1 až 20 atomy uhlíku, který zahrnuje rozvětvené acyklické skupiny, allyl,

substituovaný alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, kde substituentem je halogen, hydroxyskupina, alkoxykupina s 1 až 3 atomy uhlíku, aryloxykupina s alespoň 6 atomy uhlíku, aminoskupina, alkylaminoskupina, dialkylaminoskupina s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, acylaminoskupina se 2 až 12 atomy uhlíku, arylaminoskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, a guanidinoskupina, imidazolyl, indolyl, merkaptoskupina, alkylthioskupina s 1 až 3 atomy uhlíku, arylthioskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, karboxyskupina, karboxamidoskupina, karbalkoxykupina s 1 až 3 atomy uhlíku,

fenyl, substituovaný fenyl, kde substituentem je alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, alkoxykupina s 1 až 3 atomy uhlíku, nebo halogen,

aralkyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku nebo indolylalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, aralkenyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkenylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, substituovaný aralkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, sub-

stituovaný indolyethyl, substituovaný aralkenyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkenylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, kde substituentem je halogen nebo dihalogen, alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, hydroxyskupina, alkoxykupina s 1 až 3 atomy uhlíku, aminoskupina, aminomethyl, acylaminoskupina se 2 až 12 atomy uhlíku, hydroxyskupina, alkoxykupina s 1 až 3 uhlíku v alkylovém zbytku, alkylaminoskupina s 1 až 3 atomy uhlíku, karboxyl, halogenalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, kyanoskupina nebo sulfonamidoskupina, aralkyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku nebo indolyethyl, substituovaný na alkylové části aminoskupinou nebo acylaminoskupinou se 2 až 12 atomy uhlíku,

R₂ a R₇ znamenají vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

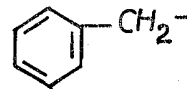
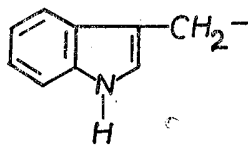
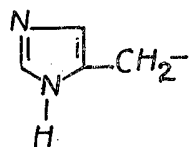
R₃ je vodík, alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, fenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, aminomethyl-fenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyfenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, acetylaminoskupina s 1 až 6 atomy uhlíku, acylaminoskupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, dimethylaminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, halogenalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, imidazolylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, indolylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, merkaptoskupina s 1 až 6 atomy uhlíku a alkylthioalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku,

R₄ je vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

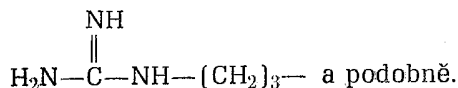
R₅ je vodík, alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, fenyl, fenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyfenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, imidazolylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, indolylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, merkaptoskupina s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylthioalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, R₄ a R₅ jsou popřípadě spojeny dohromady k vytvoření alkylenového můstku se 2 až 4 atomy uhlíku, alkylenového můstku se 2 až 3 atomy uhlíku a jedním atomem síry, alkylenového můstku se 3 až 4 atomy uhlíku obsahujícího dvojnou vazbu nebo alkylenového můstku se 2 až 4 atomy uhlíku substituovaného hydroxyskupinou, alkoxykupinou s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylem s 1 až 6 atomy uhlíku, a jejich farmaceuticky vhodných solí a biologicky účinného isomeru.

Alkylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkenylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku zahrnují například methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, terc.butyl, pentyl, isopentyl, hexyl, nebo vinyl, allyl, butenyl apod. Aralkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a

alespoň 6 atomů uhlíku v arylovém zbytku zahrnují například benzyl, p-methoxybenzyl apod. Halogen znamená chlor, brom, jód nebo fluor. Aryl představuje fenyl nebo naphyl. Heteroarylové skupiny zahrnují napří-

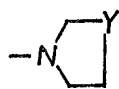


$\text{HO}-\text{CH}_2-$, $\text{HS}-\text{CH}_2-$, $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-$,
 $\text{CH}_3-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-$, $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-$,

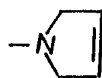


R_4 a R_5 , když jsou spojeny atomem uhlíku a dusíku, ke kterému jsou připojeny, tvoří 4- až 6členný kruh, který může obsahovat jeden atom síry nebo dvojnou vazbu.

Výhodné kruhy mají obecný vzorec



kde Y je CH_2 , S nebo CHOCH_3 , nebo vzorec



Výhodné jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde

R je hydroxyskupina, alkoxyskupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, aralkyl s 1 až 4 atomy uhlíku v arylovém zbytku, dialkylaminoskupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, alkoxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, acylaminoalkoxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, alkoxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, kde substituentem je methyl, halogen nebo methoxyskupina,

R_6 je hydroxyskupina nebo aminoskupina, R_2 a R_7 je vodík,

R_3 je alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku nebo aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

R_4 a R_5 jsou spojeny a tvoří výhodné kruhy jak uvedeno výše, kdy Y je CH_2 , S nebo $\text{CH}-\text{OCH}_3$,

R_1 má výše definovaný význam.

Výhodnější sloučeniny jsou takové výhodné sloučeniny obecného vzorce I, kde

R_1 je alkyl s 1 až 8 atomy uhlíku, substi-

tuovaný alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, kde substituentem je aminoskupina, arylthioskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, aryloxyalkyl s alespoň 6 atomy uhlíku nebo arylaminoskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, aralkyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku nebo indolylalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku nebo substituovaný aralkyl (fenylalkyl nebo naftylalkyl) s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a substituovaný indolylalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, kde substituentem (y) je halogen, dihalogen, aminoskupina, aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyskupina, alkoxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku.

Nejvýhodnější jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde

R je hydroxyskupina nebo alkoxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

R_6 je hydroxyskupina,

R_2 a R_7 je vodík,

R_3 je methyl nebo aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

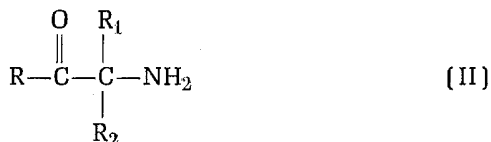
R_4 a R_5 jsou spojeny atomem uhlíku a atomem dusíku a tvoří prolin, 4-thiaprolin, nebo 4-methoxyprolin,

R_1 je alkyl s 1 až 18 atomy uhlíku, substituovaný alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, kde substituentem je aminoskupina, arylthioskupina s alespoň 6 atomy uhlíku nebo aryloxyalkyl s alespoň 6 atomy uhlíku nebo indolylalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, jako indolyethyl, nebo substituovaný aralkyl (fenylalkyl nebo naftylalkyl) s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a substituovaný indolyethyl, kde substituentem (y) je halogen, dihalogen, aminoskupina, aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyskupina, alkoxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku.

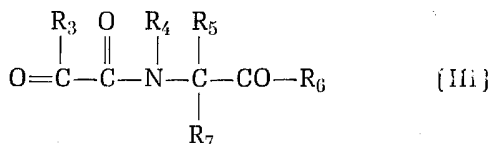
Výhodné, výhodnější a nejvýhodnější sloučeniny také zahrnují farmaceuticky vhodné soli.

Sloučeniny podle vynálezu jsou použitelné jako inhibitory konvertujícího enzymu a jako antihypertensiva.

Způsob přípravy sloučenin vzorce I se provádí tak, že se nechá reagovat amin obecného vzorce II



kde R_1 má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a R a R_2 mají výše uvedený význam, s ketonem obecného vzorce III



kde R_3 a R_5 mají výše uvedený význam, přičemž mohou zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a R_4 , R_6 a R_7 mají výše uvedený význam, potom se popřípadě ochranné skupiny odstraní a získá se sloučenina obecného vzorce I, kde R a R_6 mají výše uvedený význam kromě hydroxyskupiny a R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 a R_7 mají výše uvedený význam a popřípadě se přemění R a/nebo R_6 hydrolýzou nebo hydrogenací vhodného meziprojektu na hydroxyskupinu a popřípadě se připraví její sůl a popřípadě se izoluje biologicky účinnější isomer chromatografií nebo frakční krystalizací.

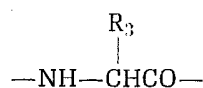
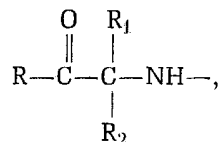
Aminokyselina (nebo ester, amid nebo hydroxamová kyselina) vzorce II se kondenzuje s ketonem vzorce III ve vodném roztoku, s výhodou téměř neutrálním, nebo ve vhodném organickém rozpouštědle (například CH_3CN) za přítomnosti kyanoborohydridu sodného a získá se sloučenina obecného vzorce I ($\text{R}_2=\text{H}$).

Ve speciálním případě, kdy R_1 má substituent α -aminoskupinu, mohou se karbonylové a aminové skupiny běžně chránit jako β -laktamové funkce.

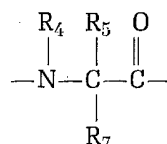
Jestliže R a R_6 je karboxylová ochranná skupina, jako alkoxyskupina nebo benzyl-oxyskupina nebo podobně, může se přeměnit známými způsoby, jako hydrolýzou nebo hydrogenací, na sloučeninu obecného vzorce I, kde R a/nebo R_6 je hydroxyskupina.

Výchozí látky, které se požadují pro výše uvedený postup, jsou známy v literatuře nebo se mohou připravit známými způsoby ze známých výchozích materiálů.

V produktech obecného vzorce I mohou být atomy uhlíku, ke kterým jsou R_1 , R_3 a R_5 připojeny, asymetrické. Tudiž existují sloučeniny v diastereoisomerních formách nebo jejich směsích. Ve výše popsané syntéze se mohou použít racemáty, enantiomery nebo diastereomery jako výchozí látky. Když se získají při syntetických postupech diastereoisomerní produkty, mohou se tyto dělit běžnými chromatografickými metodami nebo metodami frakční krystalizace. Obecně jsou v S-konfiguraci výhodné částečné struktury, tj.



a



aminokyseliny vzorce I.

Sloučeniny podle vynálezu tvoří soli s různými anorganickými a organickými kyselinami a zásadami, které jsou také zahrnuty do rozsahu vynálezu. Tyto soli zahrnují amonné soli, soli alkalického kovu jako sodné a draselné, které jsou výhodné, soli kovů alkalických zemin jako vápenaté a hořečnaté soli, soli s organickými zásadami, například dicyklohexylaminové soli, N-methyl-D-glukamin, soli s aminokyselinami jako arginin, lysin apod. Také se mohou připravit soli s organickými a anorganickými kyselinami, například HCl , HBr , H_2SO_4 , H_3PO_4 , methansulfonovou, toluensulfonovou, maleinovou, fumarovou, kafsulfonovou kyselinou. Výhodné jsou netoxické fyziologicky vhodné soli, ačkoliv jsou také použitelné jiné soli, například při izolaci nebo čištění produktu.

Soli se mohou vytvořit běžnými způsoby, jako reakcí volné kyseliny nebo volné báze produktu s jedním nebo více ekvivalenty vhodné báze nebo kyseliny v rozpouštědle nebo prostředí, ve kterém je sůl nerozpustná, nebo v rozpouštědle, jako vodě, které se potom odstraní ve vakuu nebo sublimačním sušením nebo výměnou kationtu přítomné soli za jiný kation na vhodném iontoměničci.

Sloučeniny podle vynálezu inhibují enzym konvertující angiotensin a tak blokuji konverzi deka-peptidu angiotensinu I na angiotensin II. Angiotensin II je účinná látka zvyšující krevní tlak.

Účinek snižující krevní tlak se může odvozovat od inhibice jeho biosyntézy obzvláště u zvířat a lidí, jejichž hypertenze je ovlivněna angiotensinem II. Dále odbourává konvertující enzym vasodepresorickou látku bradykinin. Proto inhibitory enzymu konvertujícího angiotensin mohou snižovat krevní tlak také potenciací bradykininu. Ačkoliv se musí relativní význam těchto a dalších možných mechanismů potvrdit, jsou inhibitory enzymu konvertujícího angiotensin účinné antihypertenzní látky na různých modelech zvířat a jsou použitelné klinicky, například u mnohých pacientů v humánní terapii s renovaskulární, maligní a esenciální

ní hypertenzí. Vznik například D. W. Cushman et al., *Biochemistry* 16, 5484 (1977).

Zhodnocení inhibitorů konvertujícího enzymu je provedeno ve zkoušce in vitro inhibice enzymu. Například použitelnou metodu uvedl Y. Piquilloud, A. Reinharz a M. Roth, *Biochem. Biophys. Acta*, 206, 136 (1970), podle které se měří hydrolýza karbobenzyl oxyfenylalanylhistidiny leucinu.

Hodnocení in vivo se například provádějí u krys s normálním tlakem, kterým se podává angiotensin I, podle techniky J. R. Weeks a J. A. Jones, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 104,646 (1960) nebo na modelu krys s vysokým obsahem reninu, jak uvádí S. Koletsky et al., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 125, 96 (1967).

Sloučeniny podle vynálezu jsou použitelné jako antihypertensiva při léčení hypertenzních savců, včetně lidí, a mohou se podávat k dosažení snížení krevního tlaku formováním do směsí, jako tablet, kapslí nebo elixírů pro parenterální podání. Sloučeniny podle vynálezu se mohou podávat pacientům (zvířatům a lidem) při potřebě tohoto léčení v dávkovém rozmezí 5 až 500 mg na pacienta při podávání několikrát za den, celková denní dávka je v rozmezí 5 až 2000 miligramů. Dávka se mění v závislosti na závažnosti onemocnění, hmotnosti pacienta a dalších faktorech, které určí lékař.

Také se mohou podávat sloučeniny podle vynálezu ve směsi s dalšími diuretiky nebo antihypertensivy. Typické jsou směsi, jejichž individuální denní dávky se pohybují od jedné pětiny minimálně doporučených klinických dávek do maximálně doporučených hladin pro stav, kdy jsou podávány jednotlivě. K ilustraci těchto směsí se může jedna antihypertenzní látka podle vynálezu klinicky účinná v rozmezí 15 až 200 mg na den účinně smístit při hladině v rozmezí 3 až 200 mg na den s následujícími antihypertensivy a diuretiky v daném rozmezí dávek na den:

hydrochlorthiazid (15 až 200 mg), chloorthiazid (125 až 2000 mg), ethakrynová kyselina (15 až 200 mg), amilorid (5 až 20 miligramů), furosemid (5 až 80 mg), propranolol (20 až 480 mg), timolol (5 až 50 mg) a methyldopa (65 až 2000 mg). Kromě toho jsou směsi s třemi léky, jako hydrochlorthiazid (15 až 200 mg) plus amilorid (5 až 20 mg) + inhibitor konvertujícího enzymu podle vynálezu (3 až 200 mg) nebo hydrochlorthiazid (15 až 200 mg) + timolol (5 až 50 mg) + inhibitor konvertujícího enzymu podle vynálezu (3 až 200 mg), účinné směsi při léčení vysokého krevního tlaku u hypertenzních pacientů. Výše uvedené rozmezí dávek se adjustuje na jednotkovém základě podle potřeby k dosažení rozdělení denní dávky.

Dávka se mění v závislosti na závažnosti onemocnění, hmotnosti pacienta a dalších faktorech, které zhodnotí lékař.

Výše uvedené směsi se formují do farmaceutických přípravků, jak uvedeno dále.

Asi 10 až 500 mg sloučeniny nebo směsi sloučenin vzorce I nebo fyziologicky vhodné soli se smísí s fyziologicky vhodným vehikulem, nosičem, pomocnou látkou, pojivem, konzervační látkou, stabilizátorem, aromatickou látkou, atd. v jednotkové dávkové formě podle přijaté farmaceutické praxe. Množství účinné látky v těchto směsích nebo přípravcích je takové, aby se dosáhlo vhodných dávek v daném rozmezí.

Příkladem adjuvantů, které se mohou včlenit do tablet, kapslí apod., jsou následující látky: pojivo, jako tragant, arabská guma, kukuřičný škrob nebo želatina, pomocná látka, jako mikrokrytalická celulóza, rozvolňovač, jako kukuřičný škrob, předem želatinovaný škrob, kyselina alginová apod., kluzná látka, jako stearan hořečnatý, sladidlo, jako sacharóza, laktóza nebo sacharin, aromatická látka jako silice z máty peprné libavková silice nebo třešňová silice. Když se použije jako jednotková dávková forma kapsle, může obsahovat kromě výše uvedených látek tekutý nosič, jako mastný olej. Různé další materiály mohou být obsaženy jako povlak nebo mohou jiným způsobem modifikovat fyzikální formu dávkové jednotky. Například mohou být tablety potaženy šelakem, cukrem nebo obojím. Sirup nebo elixír může obsahovat účinnou sloučeninu, sacharózu jako sladidlo, methyl- a propylparaben, jako konzervační látku, barvivo a aromatickou látku, jako třešňovou nebo pomerančovou silici.

Sterilní směs pro injekce se může formovat podle běžné farmaceutické praxe rozpouštěním nebo suspendováním účinné látky ve vehikulu, jako vodě pro injekci, přírodně se vyskytující rostlinný olej, jako sezamový olej, kokosový olej, podzemnicový olej, bavlníkový olej atd. nebo syntetickém mastném vehikulu, jako ethyl-oleanu nebo podobně. Podle potřeby se mohou včlenit pufrý, konzervační látky, anti-oxidantní látky apod.

Způsob podle vynálezu objasňují následující příklady. Výhodné diastereomery se izolují sloupcovou chromatografií nebo frakční krystalizací.

Příklad 1

A. N-(1-karboxy-3-fenylpropyl)-L-lysyl-L-prolin (hydrochloridová sůl)

Roztok kyseliny 2-oxo-4-fenylmáseľná a ϵ -terc.BOC-L-lysyl-L-prolinu ve vodě se upraví hydroxidem sodným na pH 7 a nechá se působit kyanoborohydrid sodný při teplotě místnosti po několik dní. V podstatě celá ϵ -terc.BOC ochranná skupina se odštěpí, když se produkt adsorbuje na silně kyselém iontoměnič. Surový N-(1-karboxy-3-fenylpropyl)-L-lysyl-L-prolin se eluuje z prysky-

řice 10% amoniakem, lyofilizuje se a čistí se gelovou filtrační chromatografií (LH—20). Nepatrný vrchol terc.BOC protonů v NMR spektru zmizí, když se na produkt působí 4 N ethylacetátem v plynném chlorovodíku. NMR spektrum výsledné chlorovodíkové soli produktu souhlasí se strukturou. Hmotové spektrum ukazuje molekulový ion při 693 m/e pro tetrasilylovaný druh. Chromatografií na XAD—2 pryskyřici za použití 3,5 % acetonitrilu v 0,1 M hydroxidu amonném se získá N- α -[1(S)-karboxy-3-fenylpropyl]-L-lysyl-L-prolin.

B. N- α -[1(S)-karboxy-3-fenylpropyl]-L-lysyl-L-prolin

Roztok kyseliny 2-oxo-4-fenylmásečné a N- ϵ -terc.Boc-L-lysyl-L-prolinu ve vodě se upraví hydroxidem sodným na pH 7 a nechá se působit kyanoborohydrid sodný při teplotě místnosti po několik dní. Produkt se adsorbuje na silně kyselém iontoměniči a eluuje se 2% pyridinem ve vodě. Frakce bohaté na produkt se oddestilují a působí se 4 N HCl v ethylacetátu, aby se odstranila terc.Boc ochranná skupina. Výsledná hydrochloridová sůl se převede na volnou bázi adsorpcí na silně kyselém iontoměniči a elucí 2% pyridinem ve vodě. Lyofilizací frakcí bohatých na produkt se získá N- α -[1(karboxy-3-fenylpropyl)-L-lysyl-L-prolin jako bílá kyprá látka. NMR spektrum souhlasí se strukturou. Hmotové spektrum ukazuje molekulový ion při 549 pro disilylovaný druh. Chromatografií se získá žádaný isomer.

Příklad 2

N-[1-methoxykarbonyl-3-methylthiopropyl]-alanyl-L-prolin

Roztok pyruvoyl-L-prolinu (185 mg), L-methionin-methylesteru (600 mg), a kyanoborohydridu sodného (200 mg) ve 20 ml methanolu se upraví zředěným methanolickým roztokem hydroxidu sodného do neutrální reakce. Po třídním stání při teplotě místnosti se produkt adsorbuje na silně kyselém iontoměniči a eluuje se 2% pyridinem ve vodě a získá se 80 mg produktu. NMR spektrum ukazuje OCH_3 při 3,95 δ , $\text{S}-\text{CH}_3$ při 2,2 δ a $\text{CH}-\text{CH}_3$ při 1,55 a 1,7 δ . Hmotový spektrogram silylového materiálu ukazuje očekávaný molekulový ion při 404 m/e.

Příklad 3

N-[1-methoxykarbonyl-2-(3-indolyl)-ethyl]-alanyl-L-prolin

Stejným způsobem jako v příkladu 2 se methylester tryptofanu kondenzuje s pyruvoyl-L-prolinem za přítomnosti kyanoborohydridu sodného za vzniku N-[1-methoxy-

karbonyl-2-(3-indolyl)ethyl]-alanyl-L-prolinu.

NMR spektrum v CDCl_3 ukazuje aromatické protony při 6,9 až 7,7, protony přilehlé k aromatickému jádru a přilehlé k dusíku při 2,8—3,9; alifatické methylenové protony při 1,4—2,7 a alaninmethyl při 1,0—1,4. Hmotový spektrogram silylového materiálu ukazuje ion při 516 m/e ve shodě s disilylovaným materiálem majícím ztrátu CH_3 skupiny.

Příklad 4

N-[1(S)-methoxykarbonyl-2-(1H-imidazol-5-yl)ethyl]-DL-alanyl-L-prolin

Způsobem popsáným v příkladu 2 se kondenzuje methylester L-histidinu s pyruvoyl-L-prolinem za přítomnosti kyanoborohydridu sodného a získá se N-[1-methoxykarbonyl-2-(1H-imidazol-4-yl)ethyl]-DL-alanyl-L-prolin. NMR spektrum v D_2O ukazuje imidazolové protony při 8,6 a 7,3; protony přiléhající k imidazolu a methylesterové protony při 3,7 a alaninmethyl při 1,1—1,38.

Příklad 5

N-[1(S)-ethoxykarbonyl-5-aminopentyl]-D,L-alanyl-L-prolin

Roztok hydrochloridu ϵ -benzoyloxykarbonyl-L-lysin-ethylester (2,94 g) ve vodě (10 mililitrů) se zalkalizuje 15 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu draselného a extrahuje se CH_2Cl_2 .

Extrakt se suší síranem hořečnatým a koncentruje se do sucha. Zbytek, ϵ -benzoyloxykarbonyl-L-lysin-ethylester, se rozpustí v tetrahydrofuranu (20 ml) a přidá se pyruvoylprolin (555 mg) a práškovité molekulární síto č. 4A (1,0 g). Směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Během dvou hodin se přidá 630 mg kyanoborohydridu sodného v 1 ml CH_3OH a směs se míchá přes noc. Potom se filtruje, koncentruje do sucha a zbytek se rozdělí do 10 ml vody a 15 ml CH_2Cl_2 (15 ml).

Vodná fáze se adsorbuje na silně kyselém iontoměniči a eluuje se 4% pyridinem ve vodě a získá se 470 mg N-[1(S)-ethoxykarbonyl-5-benzoyloxykarbonylaminopentyl]-D,L-alanyl-L-prolinu. Ochranná skupina se odstraní hydrogenací ve směsi ethanol—voda v poměru 1 : 1 na 10% paládium na uhlí jako katalyzátoru při 3,922 MPa. Směs se filtruje a filtrát se odpaří do sucha. Zbytek v methanolu se chromatografuje na koloně LH—20 a získá se žádaný N-[1(S)-ethoxykarbonyl-5-amino-pentyl]-D,L-alanyl-L-prolin. NMR spektrum (D_2O) a hmotové spektrum následující trimethylsilylace potvrzuje strukturu.

Hmotové spektrum silylovaného materiálu

lu dává vrchol při 559 m/e pro trisilylovaný derivát a vrchol při 487 m/e pro disilylovaný derivát.

Příklad 6

N-[1-karboxy-2-(S)-amino-3-fenylpropyl]-D,L-alanyl-L-prolin

2-amino-4-fenyl-3-(S)-3-ftaloylaminobutanová kyselina se kondenzuje s pyruvoyl-L-prolinem pomocí kyanoborohydridu sodného v methanolu v neutrálním prostředí a získá se N-[1-karboxy-3-fenyl-2-ftaloylamino-D,L-alanyl-L-prolin jako směs isomerů.

Tento materiál se zahřívá v ethanolu pod zpětným chladičem s jedním ekvivalentem hydrazinu po dobu 1,5 hodiny, ochladí se, ftalhydrazid se odfiltruje a žádaný produkt se izoluje chromatografickými metodami a získá se žádaná sloučenina.

Chromatografie na tenké vrstvě silikage-lu se směsí 10 EtoAc: 5 pyridin: 1 HOAc: 3 H₂O dává skvrnu s R_f = 0,15.

Příklad 7

N-[1-karboxy-2-(S)-benzoylamino-3-fenylpropyl]-D,L-alanyl-L-prolin

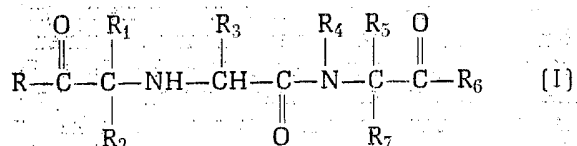
Roztok N-ftaloyl-3-amino-4-fenyl-2-hydroxybutyronitrilu v ethanolu nasyceném bez-

vodým amoniakem se nechá stát 3 dny při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odstraní ve vakuu a zbytek se zahřívá 6 hodin pod zpětným chladičem v koncentrované kyselině chlorovodíkové. Odpaří se do sucha a zbytek se čistí na koloně iontoměniče Dowex — 50 (H⁺), eluuje se postupně směsí voda — methanol 10:1, voda — pyridin 50:1 a konečně 0,5 M roztokem hydroxidu amonného. Žádaná 2,3-diamino-4-fenylpropionová kyselina se izoluje z tohoto posledního eluentu koncentrací do sucha. Připraví se roztok komplexu mědi této aminokyseliny a benzoyluje se 3-aminoskupina in situ benzoylchloridem za zásaditých podmínek metodou, kterou popsal R. Roeske et al.: J. Am. Chem. Soc., **78**, 5883 (1956). Komplex mědi se štěpí sirovočím a získá se 2-amino-3-(S)-benzoylamino-4-fenylmásečná kyselina. Tento meziprodukt se kondenzuje s pyruvoyl-2-prolinem pomocí kyanoborohydridu sodného v methanolu v neutrálním prostředí a získá se žádaný N-[1-karboxy-2-(S)-benzoylamino-3-fenylpropyl]-D,L-alanyl-L-prolin jako směs isomerů, která se může dělit popřípadě chromatografickými metodami.

Hmotové spektrum ukazuje vrchol při 596 m/e pro disilylovaný molekulový ion minus 15. NMR spektrum ukazuje absorpenci pro dva fenylly při 7,0—7,5 δ a diastereomerní methyly při 1,1 δ.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů obecného vzorce I



kde

R a R₆ jsou stejné nebo rozdílné a znamenají hydroxyskupinu, alkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, dialkylaminoalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, acylaminoalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, acyloxyalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, aryloxykupinu s alespoň 6 atomy uhlíku, aralkyloxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, substituovanou aryloxykupinu s alespoň 6 atomy uhlíku nebo substituovanou aralkoxykupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, kde substituentem je methyl, halogen nebo

methoxykupinu, aminoskupinu, alkylamino-skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, dialkylamino-skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, aralkylamino-skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku nebo hydroxyamino-skupinu,

R₁ je vodík, alkyl s 1 až 20 atomy uhlíku, který zahrnuje rozvětvené acyklické skupiny, allyl,

substituovaný alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, kde substituentem je halogen, hydroxyskupina, alkoxykupina s 1 až 3 atomy uhlíku, aryloxykupina s alespoň 6 atomy uhlíku, aminoskupina, alkylamino-skupina, dialkylamino-skupina s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, acylamino-skupina se 2 až 12 atomy uhlíku, arylamino-skupina s alespoň 6 atomy uhlíku, a guanidinokupina, imidazolyl, indolyl, merkaptoskupina, alkylthioskupina s 1 až 3 atomy uhlíku, arylthioskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, karboxyskupina, karboxamidokupina, karbal-koxyskupina s 1 až 3 atomy uhlíku,

fenyl, substituovaný fenyl, kde substituentem je alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, alkoxy-skupina s 1 až 3 atomy uhlíku, nebo halo-gen,

aralkyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku nebo indolylalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, aralkenyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkenylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, substituovaný aralkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, substituovaný indolylethyl, substituovaný aralkenyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkenylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, kde substituentem je halogen nebo dihalogen, alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, hydroxyskupina, alkoxy skupina s 1 až 3 atomy uhlíku, aminoskupina, aminomethyl, acylaminoskupina se 2 až 12 atomy uhlíku, dialkylaminoskupina s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, alkylaminoskupina s 1 až 3 atomy uhlíku, karboxyl, halogenalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, kyanoskupina nebo sulfonamid skupina, aralkyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku nebo indolylethyl, substituovaný na alkylové části aminoskupinou nebo acylaminoskupinou se 2 až 12 atomy uhlíku,

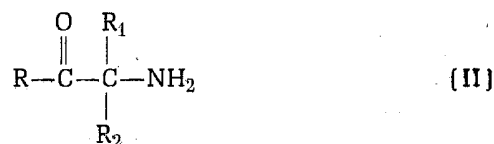
R₂ a R₇ znamenají vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

R₃ je vodík, alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, fenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, aminomethyl-fenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyfenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, acetylaminalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, acylaminalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, dimethylaminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, halogenalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, imidazolylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, indolylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, merkaptalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku a alkylthioalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku,

R₄ je vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

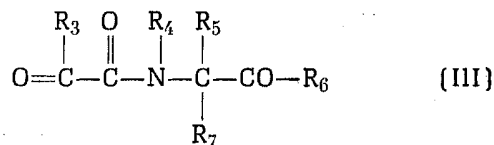
R₅ je vodík, alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, fenyl, fenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyfenylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, imidazolylalkyl s 1 až

6 atomy uhlíku, indolylalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, merkaptalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylthioalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, R₄ a R₅ jsou případně spojeny dohromady k vytvoření alkylénového můstku se 2 až 4 atomy uhlíku, alkylénového můstku se 2 až 3 atomy uhlíku, a jedním atomem síry, alkylénového můstku se 3 až 4 atomy uhlíku obsahujícího dvojnou vazbu nebo alkylénového můstku se 2 až 4 atomy uhlíku substituovaného hydroxyskupinou, alkoxy skupinou s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylem s 1 až 6 atomy uhlíku, a jejich farmaceuticky vhodných solí a biologicky účinného isomeru, vyznačený tím, že se nechá reagovat amin obecného vzorce II



kde

R₁ má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a R a R₂ mají výše uvedený význam, s ketonem obecného vzorce III



kde

R₃ a R₅ mají výše uvedený význam, přičemž mohou zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a R₄, R₆ a R₇ mají výše uvedený význam, potom se popřípadě ochranné skupiny odstraní a získá se sloučenina obecného vzorce I, kde R a R₆ mají výše uvedený význam, kromě hydroxyskupiny a R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ a R₇ mají výše uvedený význam a popřípadě se přemění R a/nebo R₆ hydrolýzou nebo hydrogenací vhodného meziproductu na hydroxyskupinu a popřípadě se připraví její sůl a případně se izoluje biologicky účinnější isomer chromatografií nebo frakční krystalizací.