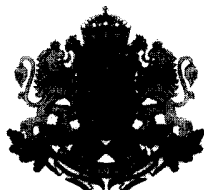


РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

(11) 100716A

(51) C07C229/48

C07K 5/023

A61K 31/195

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Заявителски № 100716 (22) Заявено на 17.07.1996 (24) Начало на действие на патента от: Приоритетни данни (31) 19526274 (32) 19.07.1995 (33) DE (41) Публикувана заявка в бюлетин № 4 30.04.1997 (45) Отпечатано на (46) Публикувано в бюлетин № на (56) Информационни източници: (62) Разделена заявка от рег. №			(71) Заявител(и): BAYER AKTIENGESELLSCHAFT, . , D-51368 LEVERKUSEN, . (DE); (72) Изобретател(и): MATZKE , Michael . , D 42113 Wuppertal (DE); MILITZER , HANS- CHRISTIAN . , BERGISCHE GLADBACH (DE); MITTENDORF , Joachim . , D 42113 Wuppertal (DE); KUNISCH , FRANZ . , ODENTHAL (DE); SCHMIDT , AXEL . , WUPPERTAL (DE); SCHOENFELD , WOLFGANG . , WUPPERTAL (DE); ZIEGELBAUER , KARL . , WUPPERTAL (DE); (74) Представител по индустриална собственост: Георги Цветанов Перев , 1124 София , ул. "Леонардо да Винчи" 3 (86) № на РСТ заявка: (87) № и дата на РСТ публикация:
---	--	--	---

(54) ПОДОБРЯВАНЕ НА ПОНОСИМОСТТА НА ФАРМАЦЕВТИЧНО АКТИВНИ
БЕТА-АМИНОКИСЕЛИНИ

(57) Изобретението се отнася до смеси от -аминокиселини и/или техни производни и циклопентан- -аминокиселини, и/или техни производни, дипептиди на посочените -аминокиселини и циклопентан- -аминокиселини и, както и смеси от посочените смеси и дипептиди, които в сравнение с чистите циклопентан- -аминокиселини са с по-добра поносимост при топлокръвни.

10 претенции , 10 претенции , 0

BG 100716A

ПОДОБРЯВАНЕ НА ПОНОСИМОСТТА НА ФАРМАЦЕВТИЧНО АКТИВНИ β -АМИНОКИСЕЛИНИ

Област на техниката

Настоящото изобретение се отнася до смеси от α -аминокиселини и/или техни производни и циклопентан- β -аминокиселини, и/или техни производни, дипептиди на споменатите α -аминокиселини и циклопентан- β -аминокиселини, както и смеси от споменатите смеси и дипептиди, които в сравнение с чистите циклопентан- β -аминокиселини показват подобрена поносимост при топлокръвни

Предшестващо състояние на техниката

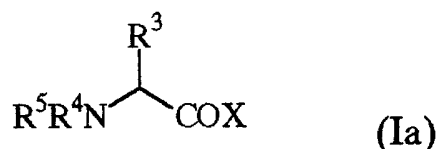
От публикациите EP-A-571 870, DOS 43 02 155, JP 021 747 53 A2 и J.Antibiot. (1991), 44 (5), 546-9 са известни циклопентан- и -пентен- β -аминокиселини. Такива съединения на β -аминокиселини действат

антимикробно, особено антимикотично. Те обаче не са лишени от странични действия.

Техническа същност на изобретението

Изненадващо беше открито, че смеси от α -аминокиселини и/или техни производни и циклопентан- β -аминокиселини и/или техни производни, дипептиди от споменатите α -аминокиселини и споменатите циклопентан- β -аминокиселини, както и смеси от споменатите смеси и споменатите дипептиди не проявяват или проявяват в ограничена степен тези нежелани странични действия и по този начин се постига подобрена поносимост при топлокръвните.

Настоящото изобретение се отнася до смеси, съдържащи една или няколко α -аминокиселини и/или техни производни и една или няколко циклопентан- β -аминокиселини и/или техни производни. Обозначението "производни" обхваща такива съединения, които произлизат от съответните аминокиселини и показват сравнимо действие, особено съответните соли.



където

R^3 означава циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или арил с 6 до 10 въглеродни атоми или водород, или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми,

като алкилът е заместен евентуално с циано, метилтио, хидрокси, меркапто, гуанидил или с група с формула $-\text{NR}^7\text{R}^8$ или R^9-OC ,

където

R^7 и R^8 независимо един от друг означават водород, линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил,

и

R^9 означава хидрокси, бензилокси, алкокси с до 6 въглеродни атоми или споменатата по-горе група $-NR^7R^8$,

или алкилът е заместен евентуално с циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или с арил с 6 до 10 въглеродни атоми, който от своя страна е заместен с хидрокси, халоген, нитро, алкокси с до 8 въглеродни атоми или с групата $-NR^7R^8$,

където

R^7 и R^8 имат значенията, дадени по-горе,

R^4 и R^5 означават водород

или

R^3 и R^4 образуват заедно група с формула $-(CH_2)_3-$,

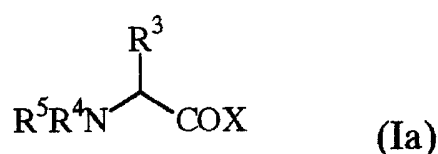
R^5 означава водород и

X означава хидрокси, арилокси с 6 до 10 въглеродни атоми, алкокси с до 6 въглеродни атоми или групата $-NR^7R^8$,

където

R^7 и R^8 имат значенията, дадени по-горе.

Особено се предпочитат α -аминокиселини с обща формула (Ia)



където

R^3 означава линеен или разклонен алкил с до 6 въглеродни атоми, който е заместен евентуално с хидрокси или с фенил, който от своя страна може да е заместен с хидрокси,

където

R^4 и R^5 означават водород

или

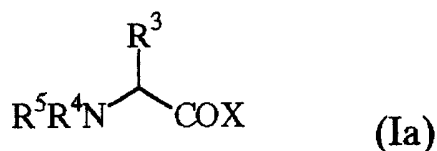
R^3 и R^4 образуват заедно група с формула $-(CH_2)_3-$,

R^5 означава водород и

X означава хидрокси.

17.07.98
4

Най-много се предпочитат α -аминокиселините с обща формула (Ia)



където

R^3 означава метил или една група с формулата $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$

където

R^4 и R^5 означават водород

или

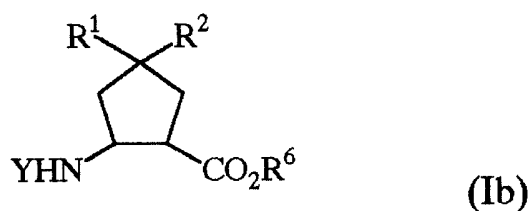
R^3 и R^4 образуват заедно група с формула $-(\text{CH}_2)_3-$,

R^5 означава водород и

X означава хидроксигрупа.

Примери за такива α -аминокиселини са: (S)-изолевцин, (S)-аланин и (S)-пролин.

Като циклопентан- β -аминокиселини за смесите съгласно изобретението са подходящи предимно циклопентан- β -аминокиселини с обща формула (Ib)



където

R^1 и R^2 означават водород или

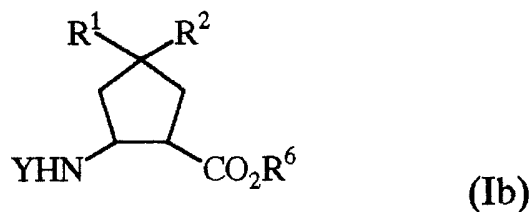
R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=\text{CH}_2$

R^6 означава водород или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил и

Y означава водород, линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или арил.

17.07.98

Особено предпочитани са циклопентан-β-аминокиселини с общата формула (Ib)



където

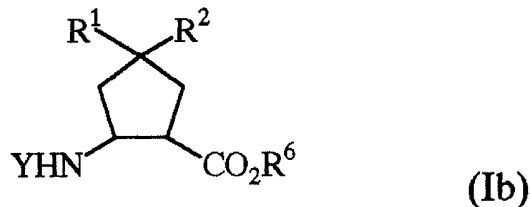
R^1 и R^2 означават водород или

R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$

R^6 означава водород или линеен или разклонен алкил с до 6 въглеродни атоми или фенил и

Y означава водород.

Най-много се предпочитат циклопентан-β-аминокиселини с обща формула (Ib)



където

R^1 и R^2 означават водород или

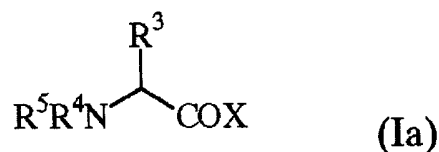
R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$,

R^6 означава водород и

Y означава водород.

Примери за такива циклопентан-β-аминокиселини са: 2-амино-4-метиленициклопентан-1-карбоксилна киселина и 1,2-цис-аминоциклопентан-1-карбоксилна киселина.

Предпочитани смеси съгласно изобретението се състоят от α-аминокиселини с обща формула (Ia)



където

R^3 означава циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или арил с 6 до 10 въглеродни атоми или водород, или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми,

като алкилът е заместен евентуално с циано, метилтио, хидрокси, меркапто, гуанидил или с група с формула $-NR^7R^8$ или R^9-OC ,

където

R^7 и R^8 независимо един от друг означават водород, линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил,

и

R^9 означава хидрокси, бензилокси, алкокси с до 6 въглеродни атоми или споменатата по-горе група $-NR^7R^8$,

или алкилът е заместен евентуално с циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или с арил с 6 до 10 въглеродни атоми, който от своя страна е заместен с хидрокси, халоген, нитро, алкокси с до 8 въглеродни атоми или с групата $-NR^7R^8$,

където

R^7 и R^8 имат значенията, дадени по-горе,

R^4 и R^5 означават водород

или

R^3 и R^4 образуват заедно група с формула $-(CH_2)_3-$,

R^5 означава водород и

X означава хидрокси, арилокси с 6 до 10 въглеродни атоми, алкокси с до 6 въглеродни атоми или групата $-NR^7R^8$,

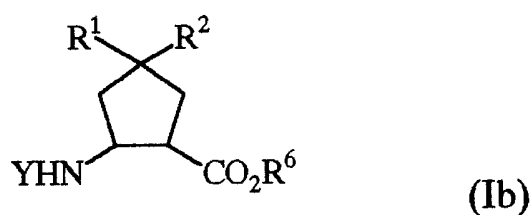
където

R^7 и R^8 имат значенията, дадени по-горе.

и

циклопентан- β -аминокиселини с обща формула (Ib)

17.07.96



където

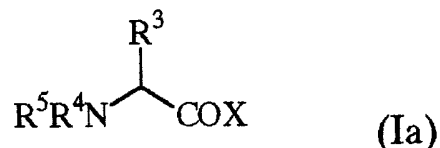
R^1 и R^2 означават водород или

R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$

R^6 означава водород или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил и

Y означава водород, линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или арил.

& Особено предпочитани смеси съгласно изобретението се състоят от α -аминокиселини с обща формула (Ia)



където

R^3 означава линеен или разклонен алкил с до 6 въглеродни атоми, който е заместен евентуално с хидрокси или с фенил, който от своя страна може да е заместен с хидрокси,

където

R^4 и R^5 означават водород

или

R^3 и R^4 образуват заедно група с формулата $-(CH_2)_3-$,

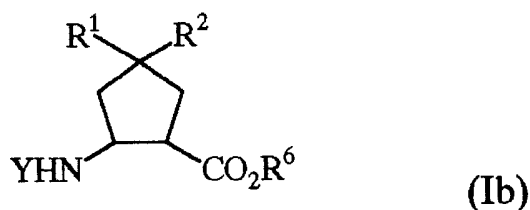
R^5 означава водород и

X означава хидрокси

и

циклопентан- β -аминокиселини с обща формула (Ib)

17.07.98



където

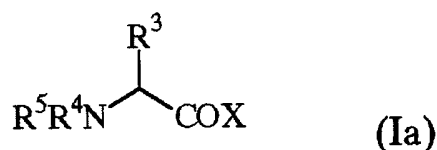
R^1 и R^2 означават водород или

R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$

R^6 означава водород или линеен или разклонен алкил с до 6 въглеродни атоми или фенил и

Y означава водород.

Най-предпочитани са смеси от α -аминокиселини с обща формула (Ia)



където

R^3 означава метил или една група с формулата $-CH(CH_3)CH_2CH_3$

където

R^4 и R^5 означават водород

или

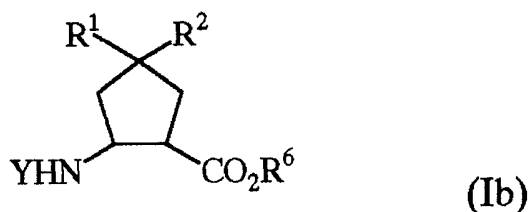
R^3 и R^4 образуват заедно група с формулата $-(CH_2)_3-$,

R^5 означава водород и

X означава хидрокси

и

циклопентан- β -аминокиселини с обща формула (Ib)



където

- R^1 и R^2 означаваат водород или
 R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$
 R^6 означава водород и
 Y означава водород.

Примери за такива смеси съгласно изобретението са: смеси от (S)-изолевцин с 2-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина, (S)-аланин с 2-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина или (S)-пролин с 1,2-цис-аминоциклопентан-1-карбоксилна киселина.

При смеси, моларното съотношение на α -аминокиселините и/или тяхно производно към циклопентан- β -аминокиселини и/или тяхно производно е в обхвата от 1:99 до 99:1, предимно 1:10 до 10:1, особено предпочитано 1:5 до 5:1 и най-предпочитано 1:3 до 3:1.

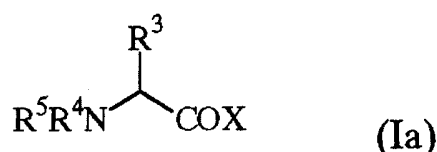
Смесите съгласно изобретението се получават обикновено чрез смесване на предимно фино пулверизирани отделни компоненти.

Предмет на настоящото изобретение са също така дипептиди, състоящи се от една α -аминокиселина или нейно производно и циклопентан- β -аминокиселина или нейно производно.

Като α -аминокиселини за дипептидите съгласно настоящото изобретение са подходящи предимно α -аминокиселините с обща формула (Ia), изброени при описанието на смесите съгласно изобретението, където X във формулата (Ia) означава ковалентна връзка на α -аминокиселината и на циклопентан- β -аминокиселината.

Като циклопентан- β -аминокиселини за дипептидите съгласно настоящото изобретение са подходящи предимно циклопентан- β -аминокиселините с обща формула (Ib), изброени при описанието на смесите съгласно изобретението, където Y във формулата (Ib) означава ковалентна връзка на α -аминокиселината и на циклопентан- β -аминокиселината.

Настоящото изобретение се отнася предимно до дипептиди, състоящи се от α -аминокиселини с обща формула (Ia)



където

R^3 означава циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или арил с 6 до 10 въглеродни атоми или водород, или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми,

като алкилът е заместен евентуално с циано, метилтио, хидрокси, меркапто, гуанидил или с група с формула $-\text{NR}^7\text{R}^8$ или R^9-OS ,

където

R^7 и R^8 независимо един от друг означават водород, линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил,

и

R^9 означава хидрокси, бензилокси, алкокси с до 6 въглеродни атоми или споменатата по-горе група $-\text{NR}^7\text{R}^8$,

или алкилът е заместен евентуално с циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или с арил с 6 до 10 въглеродни атоми, който от своя страна е заместен с хидрокси, халоген, нитро, алкокси с до 8 въглеродни атоми или с групата $-\text{NR}^7\text{R}^8$,

където

R^7 и R^8 имат значенията, дадени по-горе,

R^4 и R^5 означават водород

или

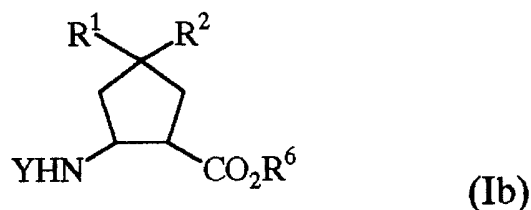
R^3 и R^4 образуват заедно група с формула $-(\text{CH}_2)_3-$,

R^5 означава водород и

X означава ковалентна връзка на α -аминокиселината и на циклопентан- β -аминокиселината,

и

циклопентан-β-аминокиселини с обща формула (Ib)



където

 R^1 и R^2 означават водород или R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$ R^6 означава водород или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил и

Y означава ковалентна връзка на α-аминокиселината и на циклопентан-β-аминокиселината.

По-предпочитаните дипептиди се състоят от α-аминокиселина с обща формула (Ia), където

 R^3 означава линеен или разклонен алкил с до 6 въглеродни атоми, който е заместен евентуално с хидроксид или с фенил, който от своя страна може да е заместен с хидроксид, R^4 и R^5 означават водород

или

 R^3 и R^4 образуват заедно група с формулата $-(CH_2)_3-$, R^5 означава водород и

X означава ковалентна връзка на α-аминокиселината и на циклопентан-β-аминокиселината.

и

циклопентан-β-аминокиселина с обща формула (Ib), където

 R^1 и R^2 означават водород или R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$ R^6 означава водород или линеен или разклонен алкил с до 6 въглеродни атоми или фенил и

Y означава ковалентна връзка на α -аминокиселината и на циклопентан- β -аминокиселината.

Особено предпочитани смеси са от α -аминокиселина с обща формула (Ia), където

R^3 означава метил или една група с формулата $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$

R^4 и R^5 означават водород или

R^3 и R^4 образуват заедно група с формулата $-(\text{CH}_2)_3-$,

R^5 означава водород и

X означава ковалентна връзка на α -аминокиселината и на циклопентан- β -аминокиселината,

и циклопентан- β -аминокиселина с обща формула (Ib), където

R^1 и R^2 означават водород или

R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=\text{CH}_2$

R^6 означава водород и

Y означава ковалентна връзка на α -аминокиселината и на циклопентан- β -аминокиселината.

Най-предпочитани са следните дипептиди:

1,2-цис-2-(S)-изолевциламино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина и

1,2-цис-2-(S)-аланиламино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина.

Смесите, съответно дипептидите съгласно изобретението могат да се състоят основно от чисти стереоизомери или от стереоизомерни смеси.

Описаните по-горе α -аминокиселини, циклопентан- β -аминокиселини и дипептиди могат да бъдат и под формата на техни соли. Тук могат да се споменат соли с органични или неорганични бази или киселини, както и вътрешни соли.

Към киселините, които могат да се присъединяват принадлежат предимно халогеноводородни киселини като например

хлороводородна киселина и бромоводородна киселина, особено хлороводородната киселина, освен това фосфорна киселина, азотна киселина, сярна киселина, моно- и бифункционални карбоксилни киселини и хидроксикарбоксилни киселини като например оцетна, малеинова, маленова, оксалова, глюконова, янтарна, фумарова, винена, лимонена, салицилова, сорбинова и млечна киселина, както и сулфонове киселини, както например р-толуолсулфонова киселина, 1,5-нафталиндисулфонова киселина или камфорсулфонова киселина.

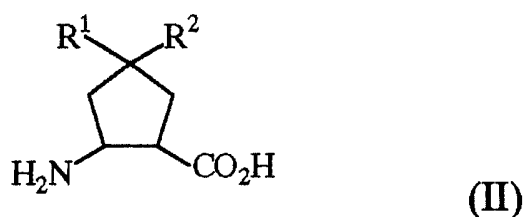
Физиологично приемливи соли могат да бъдат както метални, така и амониеви соли на съединенията съгласно изобретението, които притежават свободна карбоксилна група. Особено предпочитани са например натриеви, калиеви, магнезиеви или калциеви соли, както и амониеви соли, които произхождат от амоняк или от органични амини като например етиламин, ди-съответно триетиламин, ди-съответно триетаноламин, дициклохексиламин, диметиламиноетанол, аргинин, лизинетилендиамин или фенетиламин.

Смесите и дипептидите съгласно изобретението могат да бъдат под формата на стереоизомери, например с огледални образи (енантиомери) или такива, които не са с огледални образи (диастереоизомери), съответно на диастереоизомерни смеси или на чисти цис- или транс-изомери. Изобретението се отнася както до антиподите, рацемичните форми, диастереоизомерните смеси, както и до чистите изомери. Рацемичните форми, както и диастереоизомерите могат да се разделят на хомогенни съставни части по известен начин. Разделянето на хомогенни стереоизомерни съединения става например чрез хроматографско рацемично разделяне на диастереоизомерни естери и амиди или върху оптично активни фази. Освен това е възможна и кристализация на диастереоизомерните соли.

В рамките на изобретението киселинните групи ($R^5R^4-N-CHR^3-CO$) се намират в L-форма.

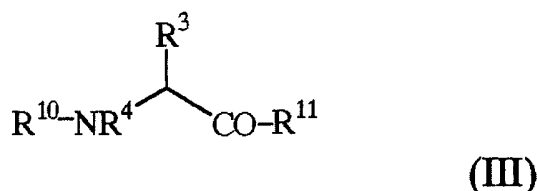
Предмет на настоящото изобретение е също така метод за получаване на дипептидите от изобретението.

Те могат да се получат, като съединения с обща формула (II)



където

R^1 и R^2 имат значенията, дадени по-горе,
взаимодействат в разтворител и в присъствието на база със
защитени аминокиселини с общата формула (III)



където

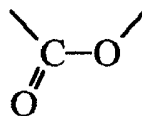
R^3 и R^4 имат значенията, дадени по-горе,

R^{10} означава аминозащитна група

и

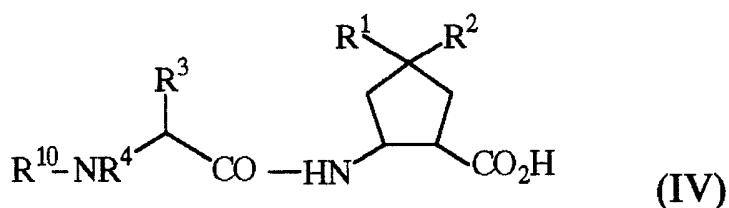
R^{11} означава една обичайна за пептидната химия активизираща
защитна група, предимно хидроксисулцинимидестерна група

R^{10} и R^{11} означават заедно групата



и се превръщат най-напред в съединението с обща формула (IV)

17.07.98
15

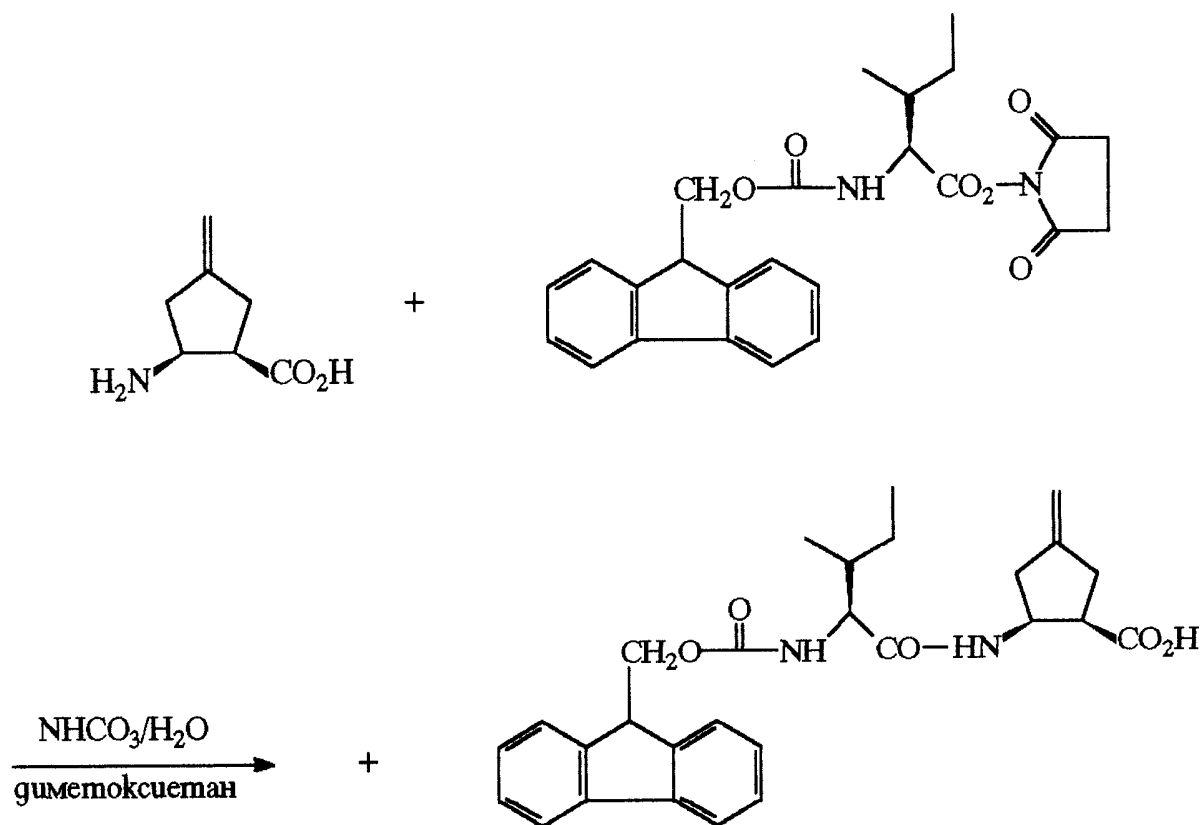


където

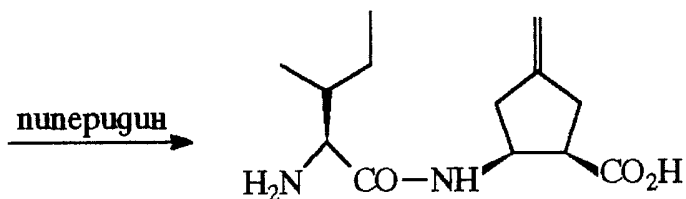
$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4$ и R^{10} имат дадените по-горе значения,
и след това се отцепва аминозащитната група (R^{10}),
евентуално стереоизомерите се разделят,
а в случай на естер ($\text{R}^6 \neq \text{H}$ във формула (Ib)) киселините реагират
по известни методи със съответните алкохоли.

Дипептидите се превръщат евентуално по известни начини в
съответните соли.

Методът съгласно изобретението може да се илюстрира със
следната схема:



17.07.98
16



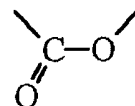
Аминозащитни групи (R^{10}) в рамките на изобретението са обичайните, използвани в пептидната химия аминокислотни групи.

Към тях спадат предимно: бензилоксикарбонил, 3,4-диметоксибензилоксикарбонил, 3,5-диметоксибензилоксикарбонил, 2,4-диметоксибензилоксикарбонил, 4-етоксибензилоксикарбонил, 4-нитробензилоксикарбонил, 2-нитробензилоксикарбонил, 2-нитро-4,5-диметоксибензилоксикарбонил, метоксикарбонил, етоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил, алилоксикарбонил, винилоксикарбонил, 3,4,5-триметоксибензилоксикарбонил, фталоил, 2,2,2-трихлоретоксикарбонил, 2,2,2-трихлоро-трет-бутоксикарбонил, ментилоксикарбонил, 4-нитрофеноксикарбонил, флуоренил-9-метоксикарбонил (Fmoc), формил, ацетил, пропионил, пивалоил, 2-хлороацетил, 2-бромоеацетил, 2,2,2-трифлуороацетил, 2,2,2-трихлороацетил, бензоил, бензил, 4-хлоробензоил, 4-бромобензоил, 4-нитробензоил, фталимидо, изовалероил или бензилоксиметилен, 4-нитробензил, 2,4-динитробензил, 4-нитрофенил или 2-нитрофенилсулфенил. Особено предпочитана е групата Fmoc.

Като карбоксилни групи (R^{11}), които се активират са подходящи обикновено адекватни с карбодиимиди, например N,N'-диетил-, N,N'-диизопропил-, N,N'-дициклохексилкарбодиимид, N-(3-диметил-аминоизопропил)-N'-етилкарбодиимидхидрохлорид, N-циклохексил-N'-(2-морфолиноетил)-карбодиимид-мета-р-толуолсулфонат или карбонилни съединения като карбонилдимидазол, или 1,2-оксазалиеви съединения като 2-етил-5-фенил-1,2-оксазалиев 3-сулфат или 2-трет-бутил-5-метилизоксазалиев перхлорат, или ациламиносъединения като 2-

етокси-1-етоксикарбонил-1,2-дихидрохинолин, или анхидрид на пропанфосфонова киселина, или изобутилхлороформиат, или бензотриазолилокси-трис(диметиламино)фосфониев хексафлуорофосфат, 1-хидроксибензотриазол или хидроксисулцинимидестер. Освен това α -аминокиселината може да се вложи под формата на анхидрид на Leuch

(R^{10} и R^{11} във формула (III) означаваат заедно групата



Предпочита се хидроксисулцинимидестерът.

Като разтворители са подходящи обичайните органични разтворители, които не се променят в реакционните условия. Към тях принадлежат предимно етери като диетилетер, диоксан, тетрахидрофуран, гликолдиметилетер, диметоксиетан или въглеводороди като бензол, толуол, ксилол, хексан, циклохексан или фракции земно масло или диметилформамид. Възможно е също така да се използват смеси от споменатите разтворители. Предпочитат се тетрахидрофуран, диетилетер и диметоксиетан. Освен това е възможно използването на вода или смеси на по-горе споменатите разтворители с вода.

Освен това могат да се влагат карбонати на алкални метали, като например натриев или калиев карбонат или хидрогенкарбонат, или органични бази като триалкиламини, например триетиламин, етилдиизопропиламин, N-етилморфолин, N-метилпиперидин или N-метилморфолин. Предпочита се N-метилморфолин.

Помощните средства и базите се влагат в количество от 1.0 mol до 3.0 mol, предимно 1.0 mol до 1.2 mol, на база на 1 mol от съединенията с обща формула (III).

Реакциите се провеждат в температурна област от 0°C до 100°C, предимно при 0°C до 30°C и при нормално налягане.

Реакциите могат да се провеждат както при нормално, така и при повишено или понижено налягане (например 0.5 до 5 bar), предимно при нормално налягане.

Отцепването на аминозащитната група става обикновено по познат начин при кисели или основни условия, или редуктивно чрез каталитично хидриране например с Pd/C в органични разтворители като етери, например тетрахидрофуран или диоксан, или алкохоли, например метанол, етанол или изопропанол.

Обикновено хидрирането се извършва в температурна област от 0°C до 80°C, предимно от 0°C до 40°C.

Обикновено хидрирането се извършва при повишено налягане от 2 bar до 8 bar, предимно от 3 до 5 bar.

За отцепването на аминозащитната група ($R^{10} = \text{Fmoc}$) са подходящи бази както пиперидин, морфолин, дициклохексиламин, р-диметиламинопиридин, диизопропилетиламин или пиперазин. Предпочита се пиперидин.

Помощните средства и базите се влагат в количество от 1.0 mol до 3.0 mol, предимно 1.0 mol до 1.2 mol, на база на 1 mol от съединенията с обща формула (IV).

Реакциите се провеждат в температурна област от 0°C до 100°C, предимно при 0°C до 30°C и при нормално налягане.

Реакциите могат да се провеждат както при нормално, така и при повишено или понижено налягане (например 0.5 до 5 bar), предимно при нормално налягане.

Съединенията с обща формула (II) са познати.

Съединенията с обща формула (III) са отчасти познати или могат да се получат по обичайни методи.

Методите за получаване, представени по-горе са дадени за илюстрация. Получаването на съединенията съгласно изобретението с обща формула (Ia) и (Ib), в които X и Y означават

заедно ковалентна връзка, не се ограничава с тези методи. Всяка модификация на тези методи е приложима за получаването по същия начин.

Исходна точка за настоящото изобретение беше изясняването на следния механизъм:

Описаните тук циклопентан- β -аминокиселини с обща формула (II) се акумулират от различни кvasни видове чрез транспорт на аминокиселини. Транспортът на β -аминокиселини може да се потиска от алифатни аминокиселини, особено от L-изолевцин, L-левцин, L-аланин, L-метионин и L-валин. β -Аминокиселините потискат биосинтеза на протеин. Това потискане може да се антагонизира от една от алифатните аминокиселини, особено от L-изолевцин или L-аланин. Едновременно даване на β -аминокиселина и на антагонизиращата естествена аминокиселина, като смес и/или ковалентно свързани като дипептид, води до намаляване на страничните действия при топлокръвни, като в същото време се запазва антимикотичното действие *in vivo*.

Заради това, съединенията или смесите съгласно изобретението показват един неочакван, ценен фармакологичен спектър на действие.

Съединенията или смесите съгласно изобретението с общи формули (Ia) и (Ib) и техните киселиноприсъединителни соли показват *in vivo* силно антимикубиално, особено силно антимикотично действие. Тяхната ниска токсичност обуславя същевременно една по-добра поносимост. Те притежават широк антимикотичен спектър на действие спрямо дерматофити, като *Trichophyton mentagrophytes* и *Microsporum canis*, спрямо гъби по къловеме като *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Epidermophyton floccosum* и спрямо плесенни гъби като *Aspergillus niger* и *Aspergillus fumigatus*. Изброяването на тези микроорганизми не поставя в

никакъв случай ограничение пред бактериите за унищожаване, а има само обяснителен характер. Затова те са подходящи за лечение на дерматомикози и системни микози.

Изследване на активността in vivo

Като модел за изпитване на активността in vivo беше използвана системна кандидоза по мишки.

Мъжки мишки CFW₁ с тегло 29 g се заразяват с инжекция във вената на опашката с 3×10^5 КВЕ *C.albicans* на животното.

Нетретираните контролни животни умират в течение на една седмица след заразяването (p.i.) от генерализирана кандидоза с образуване на гранулом в бъбрека. За изследване на активността, препаратите се разтварят в 0.2 %-ен воден разтвор на глюкоза-агар и се прилага орално със стомашна сонда 2 пъти дневно.

Дневните дози са 2×25 mg/kg и 2×50 mg/kg телесно тегло (KG), терапията се провежда 5 дни.

Броят на останалите живи третирани животни се отчита до 10-ия ден p.i. За този период от контролните нетретиранни животни не остава нито едно живо животно.

За оценка на препаратите се използват по 10 животни за третиране и 10 контролни.

Резултатите са представени в таблица А

Таблица А:

Пример No.	Доза [mg/kg, 2 x дневно]	Прило- жение	Брой на живи животни
Контрола			0/10
2	25	p.o	6/10
2	50	p.o	10/10

Алтернативно, активността *in vivo* може да се определи в плъхове Wistar. Те се нуждаят от по-малки дневни дози mg/kg за да се постигне сравним терапевтичен ефект. В този случай тестът се провежда както следва:

Мъжки плъхове Wistar на 8 седмици, патогенно чисти, с тегло 200 g се заразяват с 5×10^6 КВЕ *Candida albicans* в 0.5 ml PBS през страничната вена на опашката. Това води до 100%-на смъртност в продължение на осем дни. Един ден след заразяването вече животните имат кървене в медиалния очен ъгъл; освен бъбреците са заразени и други органи като мозък, сърце, дроб, галак, ретина и бял дроб. Прилагането на веществото се извършва два пъти дневно в продължение на пет дни, перорално в по 1 ml глюкоза (5%)-агар (0.2%)-разтвор, като се започне от деня на заразяването.

По-добрата поносимост на дипептидите или смесите съгласно изобретението се определя по следния начин:

Wistar-плъховете се хранят дневно със съответните вещества и теглото се протоколира. Дава се или само β -аминокиселина или еквимоларно количество от съответната смес или дипептид с една α -аминокиселина. След 5 дневно третиране, теглото на плъховете беше останало постоянно или леко нараснало след даване на пептидите, съответно смесите, съгласно изобретението, докато при третиране с β -аминокиселината бе намалено с 5 до 10%.

Към настоящото изобретение принадлежат и лекарствени средства, съдържащи смесите и/или пептидите съгласно изобретението, както и нетоксични, инертни фармацевтични носители и помощни средства, за лечение на болести, особено на микози.

Активното или активните вещества могат да бъдат, евентуално в едно или няколко от горните носители и микрокапсуловани.

Като предпочитани фармацевтични препарати могат да се споменат таблетки, гражета, капсули, хапчета, гранулати, супозитории, разтвори, суспензии и емулсии, пасты, мехлеми, гелове, кремове, лосиони, пудри и спрейове.

Терапевтично активните съединения, съответно смеси трябва да присъстват в по-горе изброените фармацевтични препарати в концентрация от около 0.1 до 99.5, предимно от около 0.5% до 99.5 тегловни % от цялата смес.

По-горе споменатите фармацевтични препарати могат да съдържат освен изброените съединения съгласно изобретението и други фармацевтични активни вещества.

Активните вещества или лекарствените средства могат да се прилагат орално и парентерално.

Изобщо както в хуманитарната, така и във ветеринарната медицина се оказва целесъобразно, активното или активните вещества съгласно изобретението да се прилагат в количества от около 0.5 до 500, предимно 5 до 100 mg/kg тегло на 24 часа, евентуално под формата на многократни отделни приемания за достигане на желаните резултати. Едно единично приемане съдържа активното или активните вещества в количество от около 1 до около 80, особено 3 до 30 mg/kg телесно тегло.

При лекарствените средства съгласно изобретението, обикновено става въпрос за комбинирани препарати за едновременно, разделно или степенувано във времето приложение при лечение на болести.

При комбинираните препарати за едновременно приложение става въпрос за продукти, в които отделните компоненти на смесите съгласно изобретението, са физически смеси. Към тях се числят особено таблетки, гражета, капсули, хапчета, супозитории и ампули. Приложението на тези смеси като разтвори, суспензии или

емулсии е също вероятно. Към отделните компоненти на смесите съгласно изобретението принадлежат от една страна α -аминокиселините и/или техните производни, по-нататък наричани α -аминокомпоненти и от друга страна циклопентан- β -аминокиселинни компоненти и/или техните производни, по-нататък наричани β -аминокиселинни компоненти.

При комбинирани препарати за разделно приложение става въпрос за продукти, в които отделните компоненти на смесите съгласно изобретението са пространствено разделени. Към тях спадат особено таблетки, дражета, капсули, хапчета и супозитории, които отговарят на това изискване.

Също така са възможни комбинирани препарати за степенувано във времето приложение. Те дават възможност подаването на отделните компоненти на смесите съгласно изобретението да се извършва в изместена във времето последователност. При степенуваното приложение на такива комбинирани препарати е вероятно α -аминокиселинната компонента да се подава по определен начин спрямо подаването на β -аминокиселинната компонента. При това α -аминокиселинната компонента може да се подава в същата или в различна от тази на β -аминокиселинната компонента форма на приложение, напр. β -аминокиселинната компонента може да се подава интравенозно, а α -аминокиселинната компонента да се подава перорално или интравенозно.

При степенуваното приложение може и така да се подходи, че само една част от дозата на α -аминокиселинната компонента да се подаде в споменатото съотношение по време спрямо подаването на β -аминокиселинната компонента, а останалото количество от общата доза на α -аминокиселинната компонента да се подаде в една

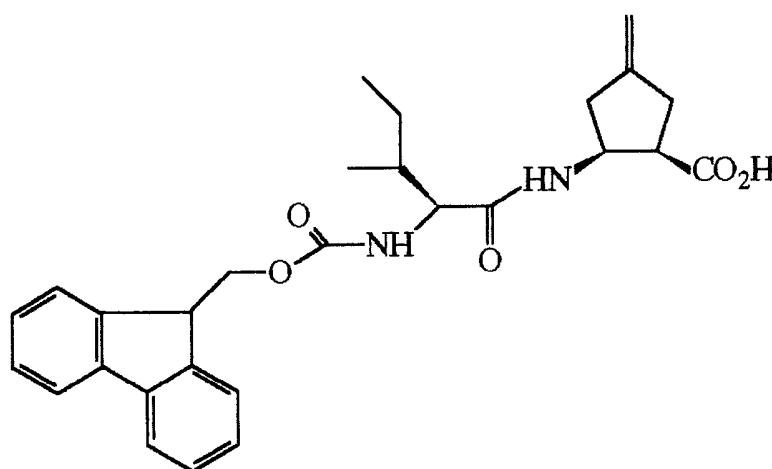
или няколко частични дози в продължение на определен период от време след подаването на β -аминокиселинната компонента.

Примери за изпълнение на изобретението

Изходни съединения

Пример I

(-)-1,2-цис-2-(N-(9-флуоренилметилоксикарбонил)-(S)-изолевцил)-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина



Към разтвор от (-)-1,2-цис-2-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина (35.1 g, 0.198 mol) натриев хидрогенкарбонат (33.36 g, 0.397 mol) в 480 ml вода се прибавя на капки при стайна температура разтвор на N-(9-флуоренилметилоксикарбонил)-(S)-изоолевцинхидроксисулцинимидестер (89.2 g, 0.198 mol) в 600 ml диметоксиетан. Бърка се през нощта при стайна температура. След това реакционната смес се подкислява с разредена солна киселина до pH 2 и се екстрахира неколккратно с диетилетер. Обединените органични фази се сушат над натриев сулфат и се концентрират под вакуум. Продуктът се кристализира от диетилетер/петролев етер.

Добив: 70 g (74% от теоретичната стойност)

Точка на топене: 207 °C.

$[\alpha]^{20}_D = -24.1$ (c=1.15 в хлороформ)

17.07.98

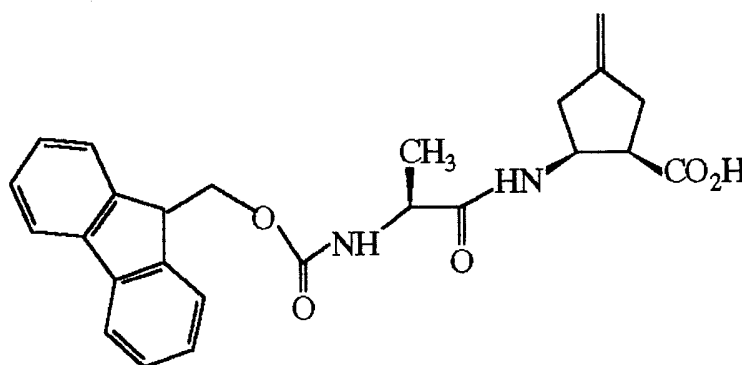
25

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ = 0.88 (cm, 6H); 0.98-1.15, 1.40-1.51, 1.52-1.80 (3m, 3H); 2.40-2.84 (m, 4H); 3.12 (cm, 1H); 4.10-4.48 (m, 4H); 4.61 (cm, 1H); 4.90 (cm, 2H); 5.84 (d, 1H); 7.20-7.80 3m, 9H).

$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$ (476.6)

Пример II

1,2-цис-2-(N-(9-флуоренилметилоксикарбонил)-(S)-аланил)амино-4-метиленициклопентан-1-карбоксилна киселина



Заглавното съединение се получава аналогично на пример I от (-)-1,2-цис-2-амино-4-метиленициклопентан-1-карбоксилна киселина (2.27 g, 16.1 mmol), N-(9-флуоренилметилоксикарбонил)-(S)-аланин-хидроксисукцинимидестер (7.0 g, 17.2 mmol) и натриев хидрогенкарбонат (1.49 g, 17.7 mmol). Суровият продукт се пречиства чрез колонна хроматография (толуол/етанол, 9:1).

Добив: 5.7 g (81% от теоретичната стойност).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ = 1.30 (d, 3H); 2.43-2.79 (m, 4H); 3.10 (cm, 1H); 4.12, 4.21, 4.34, 4.50 (4cm, 5H); 4.91 (br. s., 2H); 7.39, 7.3, 7.66, 7.79 (4cm, 8H).

$\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ (434.5)

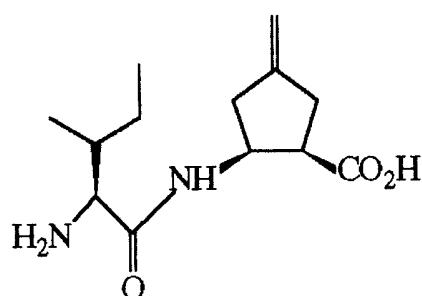
Примери за получаване

Пример 1

(+)-1,2-цис-2-(S)-изолевциламино-4-метиленициклопентан-1-карбоксилна киселина

17.07.98

26



Разтвор на съединението от пример I (244.0 g, 0.050 mol) в пиперидин (200 ml) се бърка 1 час при стайна температура. След приключване на реакцията пиперидинът се отгестилира под вакуум. Остатъкът се разтваря във вода. След неколkokратна екстракция с диетилетер, водната фаза се концентрира под вакуум при прибавяне на толуол. Продуктът се кристализира от изопропанол/диетилетер. Добив: 8.5 g (67% от теоретичната стойност)

Точка на топене: 198 °C.

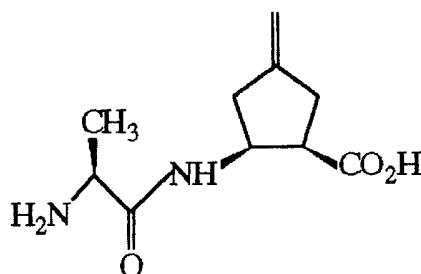
$[\alpha]_D^{20} = +23.9$ ($c = 1.08$ във вода)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, D_2O): $\delta = 0.70\text{-}0.88$ (m, 6H); 0.91-1.18, 1.19-1.43, 1.53-1.72 (3m, 3H); 2.23-2.67 (m, 4H); 2.88 (cm, 1H); 3.28 (d, 1H); 4.30 (cm, 1H); 4.85 (cm, 2H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ (254.3)

Пример 2

(+)-1,2-цис-2-(S)-аланиламино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина



Заглавното съединение се получава аналогично на пример 1 от пример II (5.7 g, 13.1 mmol). Продуктът се пречиства чрез колонна

хроматография върху силикагел (дихлорометан/метанол, 1:1) и се кристализира от метанол/изопропанол/ацетон.

Добив: 0.7 g (25% от теоретичната стойност)

Точка на топене: 218 °C.

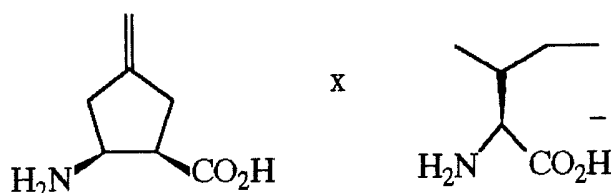
$[\alpha]_D^{20} = +5.4$ (c=0.64 в метанол)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O): $\delta = 1.49$ (d, 3H); 2.45 (cm, 1H); 2.55-2.75 (m, 3H); 3.04 (cm, 1H); 4.01 (q, 1H); 4.49 (cm, 1H); 5.00 (br, d, 2H).

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ (212.3)

Пример 3

(1R, 2S)-2-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина x (S)-изолевцин



(-)-(1R,2S)-2-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина (25.0 g, 177 mmol) и (S)-изолевцин (23.2 g, 177 mmol) се разтварят във вода (250 ml) и етанол (100 ml) при температура на кипене. Разтворът се оставя да се охлади до стайна температура и разтворителят се дестилира под вакуум при 60°C.

Добив: 48.2 g (100% от теоретичната стойност)

Точка на топене: 230 °C (разлагане).

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $\delta = 0.95$ (t, 3H); 1.00 (d, 3H); 1.18-1.35, 1.40-1.56 (2m, 2H); 1.99 (cm, 1H); 2.52-2.67, 2.73-2.88 (2m, 4H); 3.09 (cm, 1H); 3.69 (d, 1H); 3.88 (cm, 1H); 5.09 (cm, 2H).

$\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ (272.3)

Пример 4

(-)-(1R,2S)-2-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина (14.1 g, 100 mmol) и (S)-изолевцин (26.2 g, 200 mmol) се

17.07.98

28

пулверизират фино и след това се смесват в прахообразно състояние.

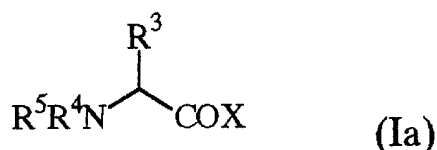
Пример 5

Смес от $(-)-(1R,2S)$ -2-амино-4-метиленциклопентан-1-карбоксилна киселина (14.1 g, 100 mmol) и (S)-изолевцин (65.5 g, 500 mmol) се приготвя аналогично на пример 4.

17.07.98

Патентни претенции

1. Смес, характеризираща се с това, че съдържа една или повече α -аминокиселини и/или техни производни и една или повече циклопентан- β -аминокиселини и/или техни производни.
2. Смес съгласно претенция 1, характеризираща се с това, че съдържа α -аминокиселини с общата формула (Ia)



където

R^3 означава циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или арил с 6 до 10 въглеродни атоми, или водород, или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми,

като алкилът е заместен евентуално с циано, метилтио, хидрокси, меркапто, гуанидил или с група с формула $-\text{NR}^7\text{R}^8$ или R^9-OC ,

където

R^7 и R^8 независимо един от друг означават водород, линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил,

и

R^9 означава хидрокси, бензилокси, алкокси с до 6 въглеродни атоми или споменатата по-горе група $-\text{NR}^7\text{R}^8$,

или алкилът е заместен евентуално с циклоалкил с 3 до 8 въглеродни атоми или с арил с 6 до 10 въглеродни атоми, който от своя страна е заместен с хидрокси, халоген, нитро, алкокси с до 8 въглеродни атоми или с групата $-\text{NR}^7\text{R}^8$,

където

R^7 и R^8 имат значенията, дадени по-горе,

R^4 и R^5 означават водород

или

R^3 и R^4 образуват заедно група с формула $-(CH_2)_3-$,

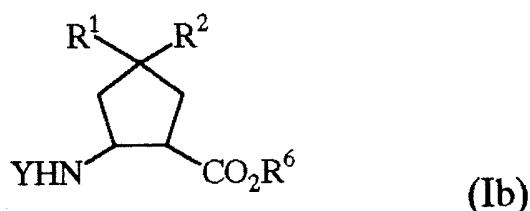
R^5 означава водород и

X означава хидроксид, арилокси с 6 до 10 въглеродни атоми, алкокси с до 6 въглеродни атоми или групата $-NR^7R^8$,

където

R^7 и R^8 имат значенията, дадени по-горе.

3. Смесь съгласно претенция 1 или 2, характеризираща се с това, че съдържа циклопентан- β -аминокиселини с общата формула (Ib)



където

R^1 и R^2 означават водород или

R^1 и R^2 образуват заедно група с формулата $=CH_2$

R^6 означава водород или линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или фенил и

Y означава водород, линеен или разклонен алкил с до 8 въглеродни атоми или арил.

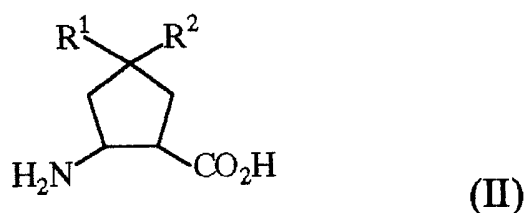
4. Смесь съгласно претенция 1, характеризираща се с това, че се състои от α -аминокиселини съгласно претенция 2 и циклопентан- β -аминокиселини съгласно претенция 3.

5. Дипептид, състоящ се от α -аминокиселина или нейно производно и циклопентан- β -аминокиселина или нейно производно.

6. Дипептид съгласно претенция 5, съдържащ α -аминокиселина с общата формула (Ia) съгласно претенция 2, където X във формулата (Ia) означава ковалентна връзка на α -аминокиселина и циклопентан- β -аминокиселина.

7. Дипептид съгласно претенция 5 или 6, съдържащ циклопентан-β-аминокиселина с общата формула (Ib) съгласно претенция 3, където Y във формулата (Ib) означава ковалентна връзка на α-аминокиселина и циклопентан-β-аминокиселина.

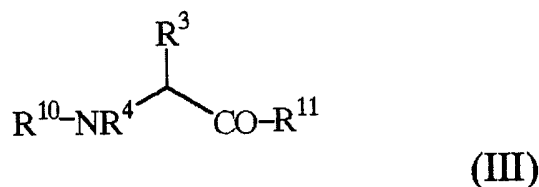
8. Метод за получаване на дипептиди съгласно една от претенциите от 5 до 7, характеризиращ се с това, че съединения с общата формула (II)



където

R¹ и R² имат значенията, дадени по-горе

взаимодействат в разтворител и в присъствието на база със защитени аминокиселини с общата формула (III)



където

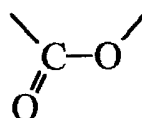
R³ и R⁴ имат значенията, дадени по-горе,

R¹⁰ означава аминозащитна група

и

R¹¹ означава една обичайна за пептидната химия активизираща защитна група, предимно хидроксисукцинимидестерна група

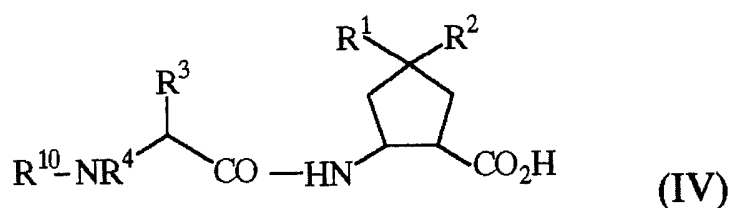
R¹⁰ и R¹¹ означават заедно групата



и се превръщат най-напред в съединенията с общата формула (IV)

17.07.98

4



където

$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4$ и R^{10} имат дадените по-горе значения,

и след това се отцепва аминозащитната група (R^{10}),

евентуално стереоизомерите се разделят,

а в случай на естер ($\text{R}^6 \neq \text{H}$ във формула (Ib)) киселините реагират по известни методи със съответните алкохоли и че дипептидите се превръщат евентуално в техни соли.

9. Смеси съгласно една от претенциите 1 до 4 и/или дипептиди съгласно една от претенциите 5 до 7 за лечение на болести, особено на микози.

10. Лекарствени средства, характеризиращи се с това, че съдържат смеси съгласно една от претенциите 1 до 4 и/или дипептиди съгласно една от претенциите 5 до 7, за борба с болести, особено с микози.