



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

237326

(11) (B2)

(51) Int. Cl.⁴
C 07 K 5/00
//A 61 K 37/02

(22) Přihlášeno 11 12 79

(21) (PV 1340-82)

(32) (31) (33) Právo přednosti od 11 12 78
(968249) Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 14 12 84

(45) Vydáno 15 04 87

(72)
Autor vynálezu

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

(73)
Majitel patentu

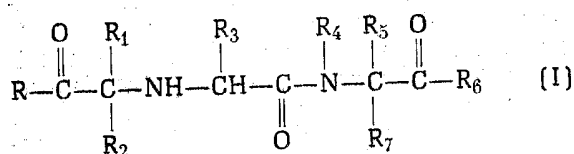
MERCK & CO., INC., RAHWAY, NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(54) Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů

1

2

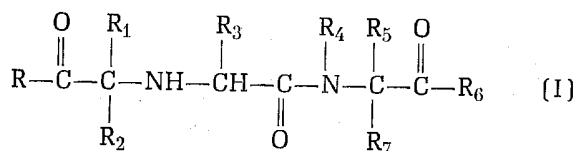
Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů o-
becného vzorce I



a jejich farmaceuticky vhodných solí a bio-
logicky účinného isomeru, spočívající v re-
akci dipeptidu obecného vzorce II se slou-
čeninou obecného vzorce III.

Látky vzorce I jsou použitelné jako inhi-
bitory konvertujícího enzymu a jeho anti-
hypertensiva.

Vynález se týká způsobu přípravy karbo-
yalkyldipeptidů obecného vzorce I



kde

R a R₆ jsou stejné nebo rozdílné a znamenají hydroxyskupinu, alkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenoxyskupinu 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, aryloxyskupinu s alespoň 6 atomy uhlíku, aralkyloxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, substituovanou aryloxyskupinu 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 methoxyskupina, 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, aryloxyskupina 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, substitu-

vaný 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, 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, kyano- 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, 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, dimethylaminalkyl 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, merkptoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku a alkylthioalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku,

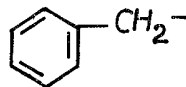
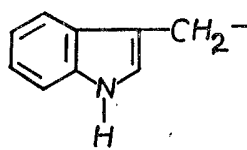
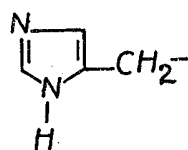
R₄ je vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

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, merkptoalkyl 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 hydroxy-, alkoxykupinou s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylem s 1 až 6 atomy uhlíku, a jejich farmaceuticky vhodných solí a biologicky účinného isomeru.

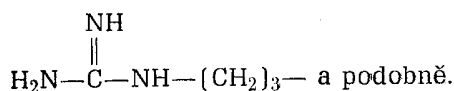
Alkylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkenylové skupiny s 1 až 6 atomy uhlíku zahrnují například methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, terc.butyl, pentyl, isopentyl, hexyl nebo vinyl, allyl, butenyl apod. Aralkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a

alespoň 6 atomů uhlíku v arylovém zbytku zahrnují například benzyl, p-methoxybenzyl apod.

Halogen znamená chlor, brom, jód nebo fluor. Aryl představuje fenyl nebo naftyl. Heteroarylové skupiny zahrnují například

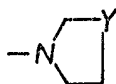


HO-CH₂-, HS-CH₂-, H₂N-(CH₂)₄-,
CH₃-S-(CH₂)₂-, H₂N-(CH₂)₃-,

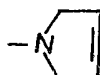


R₄ a R₅, když jsou spojeny atomem uhlíku a dusíku, ke kterému jsou připojeny, tvoří 4- až 6členný kruh, který může obsahovat jeden atom síry nebo dvojnou vazbu.

Výhodné kruhy mají obecný vzorec



kde Y je CH₂, S nebo CHOCH₃, nebo vzorec



Výhodné jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde R je hydroxyskupina, alkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku, aralkyloxyskupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomů uhlíku v arylovém zbytku, dialkylaminoskupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, alkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku, acylaminoalkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomů uhlíku v acylovém zbytku, acyloxyskupina se 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, acyloxyskupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku, kde substituentem je methyl, halogen nebo methoxyskupina,

R₆ je hydroxy- nebo aminoskupina,

R₂ a R₇ je vodík,

R₃ je alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku nebo aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

R₄ a R₅ jsou spojeny a tvoří výhodné kruhy jak uvedeno výše, kde Y je CH₂, S nebo CH-OCH₃,

R₁ má výše definovaný význam.

pyridyl, thienyl, furyl, indolyl, benzthienyl, imidazolyl a thiazolyl.

Substituované alkylové zbytky substituentu R₁, R₃ a R₅ se znázorní skupinami jako

Výhodnější sloučeniny jsou takové výhodné sloučeniny obecného vzorce I, kde

R₁ je alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, substituovaný alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, kde substituentem je aminoskupina, arylthioskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, aryloxykupina 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 atomů 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, alkoxykupina 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 alkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku,

R₆ je hydroxyskupina,

R₂ a R₇ je vodík,

R₃ je methyl nebo aminoalkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

R₄ a R₅ jsou spojeny atomem uhlíku a atomem dusíku a tvoří prolin, 4-thioprolin, nebo 4-methoxyprolin,

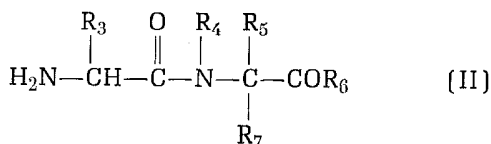
R₁ je alkyl s 1 až 18 atomy uhlíku, substituovaný alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, kde substituentem je aminoskupina, arylthioskupina s alespoň 6 atomy uhlíku nebo aryloxykupina s alespoň 6 atomy uhlíku nebo indolylalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, jako indolyethyl, nebo substituovaný aralkyl (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, alkoxykupina 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 dipeptid obecného vzorce II



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, se sloučeninou obecného vzorce III



kde

R_1 má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a X je chlor, brom, jód nebo sulfonyloxyskupina R a R_2 mají výše uvedený význam a potom se popřípadě odstraní ochranné skupiny 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 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 případně se izoluje biologicky účinnější isomer chromatografií nebo frakční krystalizací.

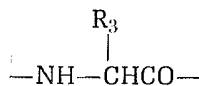
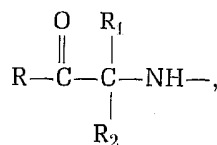
Dipeptid vzorce II se alkyluje vhodnou α -halogenkyselinou (esterem nebo amidem) nebo α -sulfonyloxykyselinou (esterem nebo amidem) vzorce III při zásaditých podmínkách ve vodě nebo organickém rozpouštědle.

Reduktivním štěpením benzylosteru obecného vzorce I, kde R_6 je benzyloxyskupina a R je alkoxyskupina, se získají sloučeniny obecného vzorce I, kde R je alkoxyskupina a R_6 je hydroxyskupina a kde R_6 je alkoxyskupina a R je benzyloxyskupina, sloučeniny obecného vzorce I, kde R je hydroxyskupina a R_6 je alkoxyskupina.

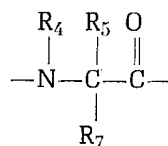
Výchozí látky, které se požadují pro výše uvedený postup, jsou známé v literatuře nebo se mohou připravit známými způsoby ze známých výchozích materiálů.

V produktu obecného vzorce I mohou být atomy uhlíku, ke kterým jsou R_1 , R_3 a R_5 připojeny, asymetrické. Tudíž existují sloučeniny v diastereomerních formách nebo jejich směsích. Ve výše popsané syntéze se mohou použít racemáty, enantiomery nebo diastereomery jako výchozí látky. Když se získají při syntetických postupech diaste-

reomerní 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, kafrsulfonovou 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 iontoměničím.

Sloučeniny podle vynálezu inhibují enzym konvertující angiotensin, a tak blokuje 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 vasopresorickou látku bradykinin. Proto inhibitory enzymu konvertujícího angioten-

sin mohou snižovat krevní tlak také potenciální 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 hypertensí. Viz 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 oxyfenylalanylhistidinylleucinu.

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 antihypertenziva 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 antihypertenzivy. 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 smísit při hladině v rozmezí 3 až 200 mg na den s následujícími antihypertenzivy a diuretiky v daném rozmezí dávky na den:

hydrochlorthiazid (15 až 200 mg), chlo-rothiazid (125 až 2000 mg), ethakrynová kyselina (15 až 200 mg), amilorid (5 až 20 mg), furosemid (5 až 80 mg), propanolol (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 enzy-

mu 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 rozhodnutí lékaře.

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 rostlinném oleji, jako sezamovém oleji, kokosovém oleji, podzemnicovém oleji, bavlníkovém oleji atd. nebo syntetickém mastném vehikulu, jako ethyloleanu nebo podobně. Podle potřeby se mohou včlenit pufrý, konzervační látky, antioxidační látky apod.

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

Příklad 1

N-(1-karboxy-3-fenylpropyl)-L-alanyl-L-prolin

Rozemele se a prosije se XAD—2 polystyrenová pryskyřice. Určí se frakce s 200 až 400 oky a 440 ml se plní do chromatografické kolony. Uvede se do rovnováhy s 0,1 M NH_4OH ve směsi voda — methanol v poměru 95 : 5 (obj./obj.). Kolona se naplní 350 miligramy N-(1-karboxy-3-fenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinu, rozpuštěného v 10 ml stejného rozpouštědla, připraveného následujícím způsobem: Směs 4-fenyl-2-oxomáselné kyseliny (1,49 g) a L-alanyl-L-prolinu (0,31 g) ve vodě se upraví hydroxidem sodným pH 7,5 a přes noc se nechá působit kyanoborohydrid sodný (0,32 g). Eluuje se stejným rozpouštědlem, jak uvedeno výše. První isomer vystoupí z kolony v objemovém rozmezí 375 až 400 ml eluentu. Druhý isomer v rozmezí 440 až 480 ml, s přechodnými frakcemi obsahujícími směs isomerů. Frakce obsahující první isomer se lyofilizuje a získá se 130 mg bílé látky. Překrystalováním s 1 ml vody upravené na pH 3 se získá 94 mg bílých jehliček, teplota tání 148 až 151 °C.

Toto je účinnější isomer a má S, S, S konfiguraci jak stanoveno rentgenovým paprskem; $[\alpha]_D = -67,0^\circ$, (0,1 M HCl) po sušení ve vakuu kyslíčnickem fosforečným. NMR spektrum (DMSO) ukazuje jediný dublet pro methylové protony při 1,22 ppm. Lyofilizací frakce obsahující druhý isomer se získá 122 miligramů bílé látky. Překrystalováním 103 miligramů z 2,5 ml vody upravené na pH 3 se získá 64 mg pérové bílých krystalů, teplota tání 140 až 145 °C, $[\alpha]_D = -101,6^\circ$ (0,1 M HCl) po sušení.

NMR spektrum (DMSO) ukazuje methylový dublet při 1,17 ppm.

Příklad 2

N-karboxymethyl-L-alanyl-L-prolin

V malé baňce vybavené pH elektrodou se smísí 1,05 g L-alanyl-L-prolinu a 1,2 ml 4 M NaOH. Přidá se 0,53 g chlorooctové kyseliny v 1,2 ml 2 M NaOH; pH se upraví na 8 až 9, zahřívá se na 85 °C a pH se udržuje 15 minut na hodnotě 8 až 9 přidáváním hydroxidu sodného podle potřeby. Přidá se dalších 0,53 g chlorooctové kyseliny a potřebné množství hydroxidu sodného během 15 minut. Přidá se potřetí 0,53 g chlorooctové kyseliny, pH se udržuje 15 minut na

8 až 9, dalších 15 minut se udržuje při 85 °C a ochladí se.

Reakční směs se nechá projít kolonou Dowexu 50 (H+), promyje se vodou a eluuje se dvouprocentním pyridinem ve vodě. Spojí se frakce, které ukazují pozitivní ninhydrinovou reakci, koncentruje se ve vakuu na malý objem, a lyofilizuje se.

Tento materiál se rozpustí v několika ml vody a naplní se do kolony Dowexu 50 (Na+). Eluuje se 0,5 M kyselinou citrónovou upravenou hydroxidem sodným na pH 3,3. Žádaný produkt vystupuje první (ninhydrinová zkouška), dobře odlišný od nezureagovaného alanylprolinu. Frakce produktu se koncentruje ve vakuu na hmotnost asi 300 g.

Tento roztok se plní do kolony Dowexu 50 (H+). Promyje se vodou, potom se produkt eluuje 2% pyridinem ve vodě. Produktová frakce se koncentruje ve vakuu na malý objem a lyofilizuje se. Získá se 417 mg N-karboxy-methyl-L-alanyl L-prolinu.

NMR spektrum (D_2O , MeOH vnitřní standard):

1,58 ppm (d, $J=6$) s malou částí při 1,53 (d, $J=6$) (celkem 3H),
1,77—2,68 (široký m, 4H),
3,63 (s) nad 3,28—3,92 (m), (celkem 4H),
4,05—4,72 (široký m, 2H) překrývaný vrcholem vody při 4,68.

Příklad 3

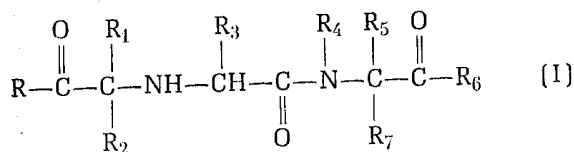
N-(1-karboxy-3-fenylpropyl)-L-alanyl-L-prolin

Směs 4-fenyl-2-oxomáselné kyseliny (1,49 gramu) a L-alanyl-L-prolinu (0,31 g) ve vodě se upraví hydroxidem sodným na pH 7,5 a přes noc se nechá působit kyanoborohydrid sodný (0,32 g). Produkt se adsorbuje na silně kyselém iontoměničci a eluuje se 2% pyridinem ve vodě a získá se 0,36 g surového diastereomerního produktu, N-(1-karboxy-3-fenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinu.

Čistí se gelovou filtrací (LH—20) pro spektrografickou analýzu. NMR spektrum v DMSO ukazuje aromatický vodík při 7,20, široký singlet při 4,30, široké multiplety při 3,0—3,9, 2,67 a 1,94 a dublet při 1,23 a 1,15. Hmotové spektrum ukazuje molekulový iont při 492 m/e pro ditrimethylsilylovaný druh.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů obecného vzorce I



kde

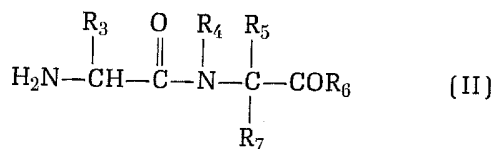
R a R₆ jsou stejné nebo rozdílné a znamenají hydroxyskupinu, alkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenoxyskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, dialkylaminoalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, acylaminoalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, acyloxyalkoxykupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, aryloxyskupinu s alespoň 6 atomy uhlíku, aralkyloxyskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, substituovanou aryloxyskupinu 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 methoxyskupina, aminoskupinu, 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, aryloxyskupina 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 uhlí-

ku 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, alkoxykupina 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, kyano- nebo sulfonamidoskupina,

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, 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, vyznačený tím, že se nechá reagovat dipeptid obecného vzorce II



kde

R_3 a R_5 mají výše uvedený význam, přičemž mohou zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a R_4 , R_6 , R_7 mají výše uvedený význam, se sloučeninou obecného vzorce III



kde

R_1 má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a X je chlor, brom, jód nebo sulfonyloxyskupina a R a R_2 mají výše uvedený význam a potom se popřípadě odstraní ochranné skupiny 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 případně se izoluje biologicky účinnější isomer chromatografií nebo frakční krystalizací.