



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

237325
(11) (B2)

(22) Přihlášeno 11 12 79
(21) (PV 1339-82)

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

(40) Zveřejněno 31 08 81

(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.,
WESIFIELD, NEW JERSEY, TRISTRAM EDWARD W., WATCHUNG,
NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(73)
Majitel patentu

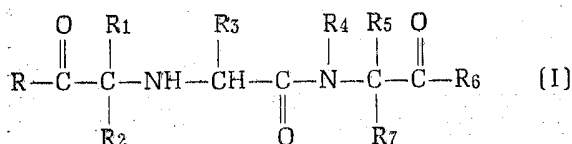
MERCK & CO., INC., RAHWAY, NEW JERSEY (Sp. st. a.)

(54) Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů

1

2

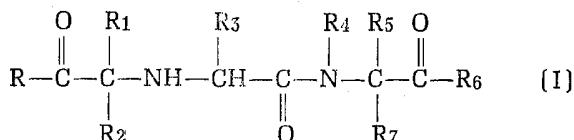
Způsob přípravy karboxyalkyldipeptidů
obecného vzorce I



a jejich farmaceuticky vhodných solí a biologicky účinného isomeru, spočívající v reakci ketonu obecného vzorce II s aminokyselinou nebo chráněnou aminokyselinou obecného vzorce III.

Látky vzorce I jsou použitelné jako inhibitory konvertujícího enzymu a jako antihypertensiva.

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, aryl-oxyskupinu s alespoň 6 atomy uhlíku, aralkyloxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku 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, 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 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, karboalkoxykupina 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, substituovaný 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, 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,

R₇ znamená vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

R₂ je vodík,

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 s 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,

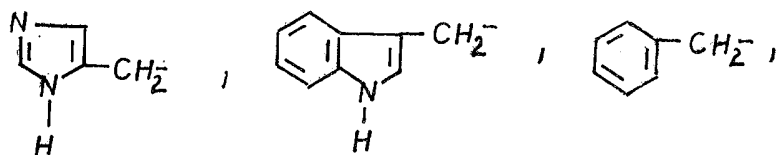
R₄ je vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku,

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,

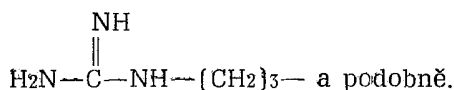
R₄ a R₅ jsou popřípadě spojeny dohromady k vytvoření alkylenového můstku se 2 až 4 atomy uhlíku, alkylenového můstku se 2 až 3 atomy uhlíku a jedním atomem síry, alkylenového můstku se 3 až 4 atomy uhlíku obsahujícího dvojnou vazbu nebo alkylenového můstku se 2 až 4 atomy uhlíku substituovaného hydroxy-, 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 atomy uhlíku v arylovém zbytku zahrnují například benzyl, p-methoxybenzyl apod. Halo-

gen znamená chlor, brom, jod nebo fluor. Aryl představuje fenyl nebo naftyl. Heteroarylové skupiny zahrnují například pyridyl, thienyl, furyl, indolyl, benzthienyl, imidazolyl a thiazolyl.

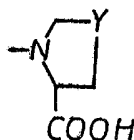


HO-CH₂-, HS-CH₂-, H₂N-(CH₂)₄-,
CH₃-S-(CH₂)₂-, H₂N-(CH₂)₃-,



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.

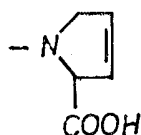
Výhodné kruhy mají obecný vzorec



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, alkenoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku, aralkyloxykupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a alespoň 6 atomy uhlíku v arylovém zbytku, dialkylaminoskupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku, alkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku, acylaminokoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylovém zbytku a 2 až 12 atomy uhlíku v acylovém zbytku, acyloxykupina se 2 až 12 atomy uhlíku, alkoxykupina s 1 až 6 atomy uhlíku, kde substituentem je methyl, halogen nebo methoxykupina,

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,

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

R₁ má výše uvedený význam.

Výhodnější sloučeniny jsou takové výhodné sloučeniny obecného vzorce I, kde

R₁ je alkyl s 1 až 8 atomy uhlíku, substituovaný alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku, kde substituentem je aminoskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, aryloxykupina 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, 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-thiaprolin 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 keton obecného vzorce II



kde

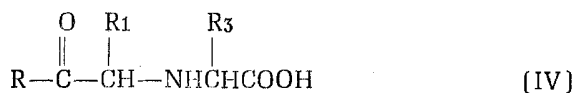
R má výše uvedený význam kromě hydroxyskupiny a

R₁ má výše uvedený význam, přičemž může obsahovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny, s aminokyselinou nebo chráněnou aminokyselinou obecného vzorce III



kde

R₃ má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny, v přítomnosti redukčního činidla za vzniku meziprojektu obecného vzorce IV



kde

R, R₁ a R₃ mají výše uvedený význam, a potom se tento meziprodukt kopuluje s aminokyselinou nebo chráněným derivátem aminokyseliny obecného vzorce V



kde

R₆ má výše uvedený význam kromě hydroxyskupiny a

R₅ má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a

R₇ a R₄ mají výše uvedený význam 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, potom se ochranné skupiny odstraní a popřípadě se přemění R a/nebo R₆ hydrolýzou nebo hydrogenací vhodného meziprojektu na hydroxyskupinu a popřípadě se připraví její sůl a popřípadě se izoluje biologicky účinnější isomer chromatografií nebo frakční krystalizací.

Ketokyselina (nebo ester, amid nebo hydroxamová kyselina) vzorce II se kondenzuje s aminokyselinou vzorce III ve vodném roztoku, s výhodou téměř neutrálním, nebo ve vhodném organickém rozpouštědle (například CH₃CN) za přítomnosti kyanoborohydridu sodného a získá se sloučenina vzorce I (R₂=H).

Během kopulační reakce se reaktivní skupiny chrání například N-formylem, N-terc.

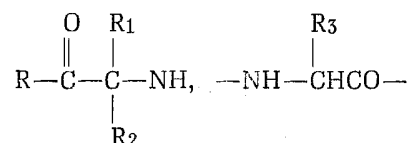
butoxykarbonylem a N-karbobenzoylskupinou a potom se odstraní za vzniku sloučeniny vzorce I.

Kondenzační činidla v tomto postupu jsou taková, jako se používají v chemii peptidů, jako dicyklohexylkarbodiimid nebo difenylfosforylazid nebo se může sloučenina vzorce IV aktivovat přes přechodně vytvořené aktivní estery, takové, jaké se odvozují od 1-hydroxybenzotriazolu.

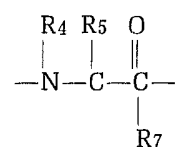
Jestliže R a R₆ je karboxylová ochranná skupina, jako alkoxy- nebo benzyloxyskupina nebo podobně, může se přeměnit známými způsoby, jako hydrolýzou nebo hydrogenací na sloučeninu vzorce I, kde R a/nebo R₆ je hydroxyskupina.

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

V produktech obecného vzorce I mohou být atomy uhlíku, ke kterým jsou R₁, R₃ a R₅ 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 diastereomerní 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 soli, 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, H₂SO₄, H₃PO₄, methansulfonovou, toluensulfonovou, maleinovou, fumarovou, kafersulfonovou 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 iontoměničči.

Sloučeniny podle vynálezu inhibují enzym konvertující angiotensin a tak blokují konverzi decapeptidu 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 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-oxifenylalanylistidinylleucinu. 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 mg. 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 kliniky 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 dávek na den:

hydrochlorthiazid (15 až 200 mg), chlorthiazid (125 až 200 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 metyldopa (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 tragan, arabská guma, kukuřičný škrob nebo želatina, pomocná látka, jako mikrokrytalická celulóza, rozvolňovadlo, jako kukuřičný škrob, předem želatinový 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 třesňová 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 třesňovou 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 vyskytujícími rozstlinnými oleji, jako sezamovým oleji, kokosovým oleji, podzemnicovým oleji, bavlníkovým oleji atd., nebo syntetickém mastném vehikulu, jako ethyloleanu nebo podobně. Podle potřeby se mohou včlenit puřry, 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

Směs 4-fenyl-2-oxomásečné 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 iontoměničce 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 siglet 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.

Příklad 2

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

2-amino-4-fenyl-3-(S)-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 v tenké vrstvě na silikagelu se směsí 10 EtoAc: 5 pyridin: 1 HOAc: 3 H₂O dává skvrnu s $R_f = 0,15$.

Příklad 3

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 bezvodým 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 iontoměničce Do-

wex-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 izomerů, která se může dělit případně chromatografickými metodami.

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

Příklad 4

N-(2-amino-1-karboxy-4-methylpentyl)-D,L-alanyl-L-prolin

K roztoku 0,731 g trans-3-amino-4-[2-methylpropyl]-2-azetidionu [připravený adicí chloresulfonylsokyanatanu na 4-methyl-1-penten, získaný β -laktam se chrání jako terc.butylidimethylsilylový derivát a potom se přidá diisopropylamid lithný, dále tosylazid a chlortrimethylsilan. Kysele se zpracuje a chromatografií na silikagelu se získá trans-3-azido-4-[2-methylpropyl]-2-azetidion, který se hydrogenuje (10 % Pd/ethanol) na aminoderivát] a 4,58 g benzylpyruvátu ve 20 ml absolutního ethanolu obsahujícím 10 g práškovitého 4A molekulárního síta se přidá po kapkách roztok kyanoborohydridu sodného (0,65 g) v 8 ml absolutního ethanolu, dokud není reakce úplná. Reakční směs se filtruje a filtrát se koncentruje. Zbytek se rozpustí v 50 ml vody a okyslí se 1 N HCl na pH=3. Směs se upraví 10% roztokem uhlíčtanu sodného na pH=9,5. Vodný roztok se nasatí chloridem sodným a extrahuje se ethylacetátem (5 $\times$ 40 ml).

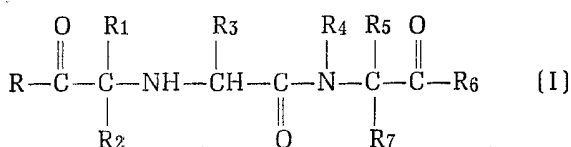
Spojené organické vrstvy se suší síranem sodným a koncentrují se za vzniku oleje (4,94 g). Chromatografií na silikagelu (ethylacetát) se získá 1,11 g produktu. NMR spektrum a hmotové spektrum souhlasí se strukturou benzylesteru N-[trans-4-[2-methylpropyl]-2-oxo-3-azetidiny]-D,L-alaninu. Debenzylace se provádí katalytickou hydrogenací [10 % Pd/C, 2:1 — etanol: voda]. Ke studenému roztoku (0 °C) kyseliny (428 mg) a terc.butylesteru L-prolinu (377 mg) v 5 ml dimethylformamidu se přidá roztok difenyl-

fosforylazidu (650 mg) v 5 ml dimethylformamidu a potom roztok triethylaminu (223 miligramů v 5 mg dimethylformamidu) během 20 minut. Po 3 hodinách se ledová lázeň odstraní a reakční směs se nechá míchat přes noc při teplotě okolí. Přidá se 100 mililitrů ethylacetátu a výsledný roztok se promyje 2 × 40 ml vody, 3 × 30 ml 5% roztoku uhličitanu sodného a 1 × 50 ml vody, načež se suší síranem sodným. Koncentrací se získá 0,78 g oleje, jehož NMR spektrum a hmotové spektrum souhlasí se strukturou terc.butylesteru N-[trans-4-(2-methylpropyl)-2-oxo-3-azetidiny]-D,L-alanyl-L-prolinu. Surový produkt se rozpustí ve 25 ml kyseliny trifluoroctové při 0 °C. Reakční směs se míchá 20 minut při 0 °C a potom 2,5 hodiny při

teplotě místnosti. Reakční směs se koncentruje do sucha a ke zbytku se přidá při teplotě místnosti 30 ml 1 N hydroxidu sodného a nechá se působit 4,5 hodiny. Zásaditá směs se přidá pomalu k silně kyselému iontoměničci a produkt se získá 2% pyridinem ve vodě. Lycfilizací se získá 0,30 g N-[2-amino-1-karboxy-4-methylpentyl]-D,L-alanyl-L-prolin, který obsahuje 4-diastereomery (S, S, S, S; S, S, R, S; R, R, R, S; R, R, S, S,) oddělitelné chromatograficky. NMR spektrum a hmotové spektrum potvrzuje strukturu. NMR spektrum ukazuje multiplety při 4,5, 3,85, 2,3, 1,79 a 1,16 ppm. Hmotový spektrogram ukazuje vrchol při 458 (disilylovaný molekulový iont-15).

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 methoxykupina, 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, hydroxykupina, 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, imida-

zoly, indoly, merkaptoskupina, alkylthioskupina s 1 až 3 atomy uhlíku, arylthioskupina s alespoň 6 atomy uhlíku, karboxyskupina, karboxamidoskupina, karboalkoxykupina 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 indolyalkyl 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 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, hydroxykupina, 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 a 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, R₇ znamená vodík nebo alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, R₂ je vodík, 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 atomů uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, imidazolylalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, indolylalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, merkaptoalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku a alkylthioalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku v alkylovém zbytku,

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

R₅ je vodík, alkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, fenyl, fenylalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, hydroxyfenylalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, aminoalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, imidazolylalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, indolylalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku, merkaptoalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku nebo alkylthioalkyl s 1 až 6 atomů uhlíku v alkylovém zbytku,

R₄ a R₅ jsou popřípadě spojeny dohromady k vytvoření alkylenového můstku se 2 až 4 atomů uhlíku, alkylenového můstku se 2 až 3 atomů uhlíku a jedním atomem síry, alkylenového můstku se 3 až 4 atomů uhlíku obsahujícího dvojnou vazbu nebo alkylenového můstku se 2 až 4 atomů uhlíku substitovaného hydroxyskupinou, alkoxyskupinou s 1 až 6 atomů uhlíku nebo alkylem s 1 až 6 atomů uhlíku, a jejich farmaceuticky vhodných solí a biologicky účinného isomeru, vyznačený tím, že se nechá reagovat keton obecného vzorce II



kde

R má výše uvedený význam kromě hydroxyskupiny a

R₁ má výše uvedený význam, přičemž může obsahovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny s aminokyselinou nebo chráněnou aminokyselinou obecného vzorce III



kde

R₃ má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny, v přítomnosti redukčního činidla za vzniku meziproductu obecného vzorce IV



kde

R, R₁ a R₃ mají výše uvedený význam a potom se tento meziproduct kopuluje s aminokyselinou nebo chráněným derivátem aminokyseliny obecného vzorce V



kde

R₆ má výše uvedený význam kromě hydroxyskupiny a

R₅ má výše uvedený význam, přičemž může zahrnovat vhodnou ochranu jakékoliv reaktivní skupiny a

R₇ a R₄ mají výše uvedený význam 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, potom se ochranné skupiny odstraní a popřípadě se přemění R a/nebo R₆ hydrolýzou nebo hydrogenací vhodného meziproductu na hydroxyskupinu a popřípadě se připraví její sůl a popřípadě se izoluje biologicky účinnější isomer chromatografií nebo frakční krystalizací.