

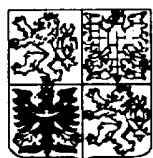
PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

280 952

ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **3220-92**

(22) Přihlášeno: 26. 02. 92

(30) Právo přednosti:
27. 02. 91 EP 91/91102950

(40) Zveřejněno: 17. 02. 93

(47) Uděleno: 22. 03. 96

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 15. 05. 96

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶:
C 07 K 5/097
C 07 K 5/02
A 61 K 38/05
// C 07 K 123:00

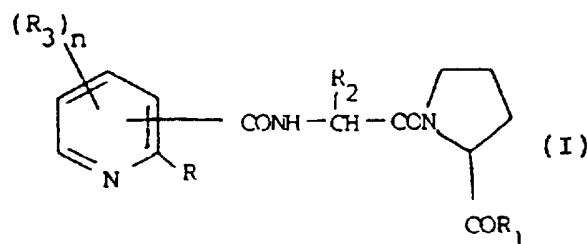
(73) Majitel patentu:
Lacer S.A., Barcelona, ES;

(72) Původce vynálezu:
Repolles Moliner Jose, Barcelona, ES;
Pubill Coy Francisco, Barcelona, ES;
Cabeza Llorente Lydia, Barcelona, ES;
Malet Falco Carlos, Barcelona, ES;

(54) Název vynálezu:
**N-(alfa-substituovaný
pyridinyl)karbonyldipeptidy, způsoby
jejich výroby a farmaceutické přípravky
na jejich bázi**

(57) Anotace:
Nové dipeptidové deriváty obecného vzorce I včetně jejich tautomerních forem, kde n je číslo 0 nebo celé číslo s hodnotou 1 až 3, R je OH, SH, COOH, NH₂, halogen, OR₄, SR₄, COOR₄, NHR₄, nebo N(R₄)₂, přičemž R₄ je zvolen ze souboru zahrnujícího alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku, fenyl, naftyl a acyl s 1 až 10 atomy uhlíku; R₁ je OH, alkoxy skupina, s 1 až 6 atomy uhlíku, která je popřípadě substituována hydroxyskupinou, alkoxy skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku nebo acyloxy skupinou s 1 až 10 atomy uhlíku, nebo fenylalkoxy skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části; R₂ je alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku nebo aminoalkyl s 1 až 4 atomy uhlíku; R₃ je halogen, nitro, alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku nebo fenylalkyl s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části; a jejich farmaceuticky vhodné soli, s vyloučením sloučenin obecného vzorce I, kde R je COOH nebo COOR₄, pokud n znamená číslo 0 a karbonyldipeptidová skupina je v poloze 3 pyridinového kruhu, způsoby výroby těchto sloučenin a farmaceutické přípravky na jejich bázi.

Shora uvedené sloučeniny jsou mj. užitečné při léčbě hypertenze.



CZ 280 952 B6

N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy, způsoby jejich výroby a farmaceutické přípravky na jejich bázi

Oblast techniky

Vynález se týká nových N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidů, které působí jako inhibitory enzymu, který způsobuje konverzi angiotensinu. Tyto nové sloučeniny je možno zpracovávat spolu s farmaceuticky vhodnými nosiče na farmaceuticky vhodné přípravky, které jsou užitečné při léčbě hypertenze nebo jiných kardiovaskulárních poruch, jejichž pathofysiologie zahrnuje systém renin-angiotensin-aldosteron. Vynález se také týká způsobů výroby těchto sloučenin a farmaceutických přípravků na jejich bázi.

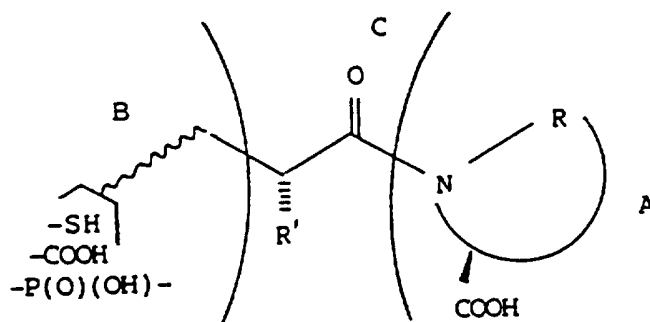
Dosavadní stav techniky

V průběhu sedmdesátých let prodělala farmakoterapie arteriální hypertenze podstatný pokrok, díky vyvinutí činidel, která vykazují přímý účinek na systémy renin-angiotensin a kallikrein-kinin a zejména díky tomu, že byly vyvinuty první sloučeniny, které účinně inhibují enzymatickou konverzi deka-peptidu angiotensinu I na účinný vassopresor angiotensin II, tj. sloučeniny, které působí jako inhibitory enzymu konvertujícího angiotensin (ACE). Tento fyziologicky důležitý enzym také degraduje vasodilatační peptid bradykinin. Ukázalo se, že několik ACE inhibitorů je schopno u experimentálních zvířat a lidí inhibovat presorové účinky intravenózně podaného angiotensinu I a vykazuje antihypertenzivní účinnost u modelových zvířat a pacientů, kteří trpí hypertensí. Také byla přesvědčivě demonstrována jejich vhodnost pro léčení kongestivního srdečního selhání.

V US patentu č. 4 105 776 jsou zveřejněny N-acylderiváty alfa-aminokyselin, které jsou účinnými ACE inhibitory a jako takové, jsou užitečné při léčení hypertenze. Z těchto sloučenin je třeba se konkrétně zmínit o merkaptoderivátech N-acyl-L-prolinu, z nichž nejreprezentativnějším příkladem je D-3-merkapt-2-methylpropanoyl-L-prolin nebo kaptopril, což je první orálně účinný ACE inhibitor sloužící jako antihypertenzivní činidlo, který byl ve světovém měřítku k dispozici.

Další důležitý průlom na tomto poli, který je však výsledkem zcela odlišného přístupu, představují sloučeniny, které byly zveřejněny v EP-A-12401, což jsou karboxyalkyldipeptidové deriváty. Zvláště reprezentativními příklady těchto sloučenin jsou enalaprilát, enalapril a lisinopril.

Lepší porozumění struktuře ACE a důležitým strukturním požadavkům na potenciální inhibitory ACE, jakož i zájem na vyvinutí nových sloučenin s odlišným profilem potence, kinetiky a/nebo toxicity vede ke kontinuálnímu vývoji nových inhibitorů ACE. Na základě několika studií, které se zabývají vztahem mezi strukturou a aktivitou, byl učiněn závěr, že účinné inhibice enzymu je možno dosáhnout pouze za použití molekuly, která vykazuje alespoň tři rozlišitelné oblasti nebo části, jak je to zřejmé z následujícího obecného vzorce:



Oblast A obvykle obsahuje v poloze alfa karboxylovou skupinu, která se silně váže ke kationtovému místu struktury enzymu. Při několika studiích se zjistilo, že nejlepší podstrukturou pro tuto oblast nebo část je L-prolin, přestože jeho pyrrolidinový kruh může být také přítomen v modifikované formě.

Oblast B musí obsahovat funkční skupinu, která vykazuje specifickou vazebnou schopnost pro kationty Zn^{++} . Tato skupina musí být přítomna na "účinném místě" enzymu. Touto skupinou vázající zinek, která je obvykle kyselá, může být merkaptoskupina (kaptopril a jeho analogy) nebo karboxyskupina (enalaprilát, lisinopril a jeho analogy), jakož i jakákoliv jiná prekursorová skupina, z níž může vzniknout účinná skupina metabolickou konverzí. Jako příklady inhibitorů ACE s prekursorovými skupinami je možno uvést acylthioderiváty alacepril a pivalopril a estery karboxylových kyselin enalapril a perindopril. Některé třídy inhibitorů obsahují v oblasti B jiné kyselé skupiny, jako například skupiny vzorce $-P(O)(OH)-$ nebo $P(O)(OH)O-$ ve volné nebo esterifikované formě. Všechny známé zinkové ligandy jsou však vždy připojeny k alkylové skupině nebo někdy také k cykloalkylové skupině, nikdy však tvoří součást aromatické struktury. (M.J.WYVRATT, A.A.PATCHETT, Medicinal Research Reviews 5, 483 až 531, 1985).

Oblast C působí jako můstek mezi účinnými místy oblasti A a B a zřejmě musí vyhovět určitým stereochemickým požadavkům, vzhledem k tomu, že nejúčinnější sloučeniny obsahují v odpovídající dipeptidové struktuře jednotku odvozenou od L-kyseliny (například jednotku L-alaninu nebo L-lysinu. Ve skupině typu kaptoprilu musí být přítomna na atomu C-2 2-methylpropanoylové jednotky stejná stereochemie.

Tento zjednodušený obecný model se vztahuje téměř ke všem různým strukturám známých inhibitorů ACE, přičemž v každé konkrétní chemické třídě je nutno uspokojit speciální nebo přídatné požadavky. V tomto kontextu jsou nejlépe známými vztahy mezi strukturou a účinností rozhodně vztahy, které byly osvětleny u systémů ze série merkpto acyl-aminokyselina (kaptoprilová skupina) a karboxyalkyldipeptid (enalapril/lisinoprilové analogy). Přestože byly ve všech třech strukturních částech prováděny systematické variace, stojí za to se zmínit o skutečnosti, že u obou z těchto obecných sérií měly různé pokusy najít skupiny vázající zinek, které by byly odlišné od merkaptoskupiny nebo karboxyskupiny, obvykle za následek vznik neúčinných sloučenin

nebo přinejmenším podstatnou ztrátu účinnosti sloučenin. Zejména ve třídě dipeptidových derivátů nebyly až dosud zveřejněny účinné inhibitory ACE s N-substituovanými karboxamidovými nebo thioamidovými skupinami, jako zinkovými ligandy.

Podstata vynálezu

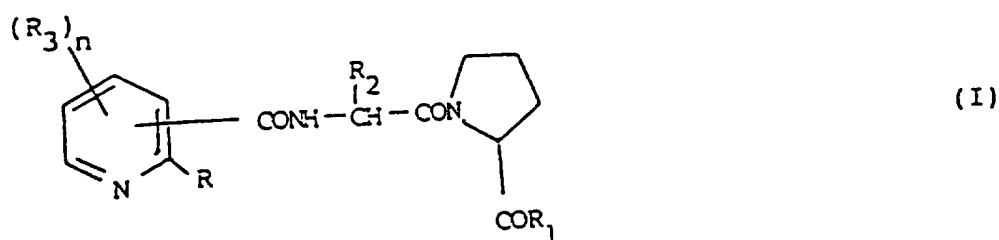
Předmětem tohoto vynálezu jsou nové dipeptidové deriváty s inhibičním účinkem vůči ACE, které jako rozhodující rozlišující znak obsahují podstrukturu tvořenou pyridinovým kruhem, k němuž je připojena potenciální skupina, která může vázat zinek, konkrétně alfa-substituent, který je například zvolen ze souboru zahrnujícího skupiny vzorce OH, SH, NH₂ a COOH, odpovídající funkčně obměněné skupiny a jejich prekursory. Tato podstruktura alfa-substituovaného pyridinu, která je prostřednictvím karbonylové skupiny vázaná k terminální aminoskupině dipeptidu, je umístěna v té části obecné struktury, která odpovídá oblasti B, popsané shora. Jako oblast A byla zvolena L-prolinová podstruktura s aminokyselinou, jako L-alaninem v můstkové oblasti C.

Díky těmto specifickým strukturním znakům není možno dipeptidové deriváty podle tohoto vynálezu zařadit nebo klasifikovat do žádné z existujících konkrétních tříd chemických sloučenin v oboru inhibitorů ACE, které byly až dosud známy.

V obecné třídě dipeptidů se sloučeniny podle tohoto vynálezu jasně odlišují od karboxyalkyldipeptidů, protože obsahují arylkarbonyldipeptidovou strukturu. Toto strukturní uspořádání je v oboru přírodních nebo syntetických inhibitorů ACE velmi neobvyklé. Kromě toho, (alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy nebyly zveřejněny ani navrženy v literatuře vztahující se k dosavadnímu stavu techniky, kterou například reprezentují také klasické přehledy tohoto oboru, jako je E.W. Petrillo a M.A. Ondetti, Medicinal Research Reviews 2,1 až 41, 1982 a M. J. Wyv-ratt a A. A. Petchett, viz shora uvedená citace.

Z praktického hlediska je kromě toho zapotřebí vzít v úvahu skutečnost, že karboxyalkyldipeptidové inhibitory podle dosavadního stavu techniky obsahují asymetrický atom uhlíku (v oblasti B), kromě dvou asymetrických atomů uhlíku dipeptidové podstruktury, což činí jejich syntézu velmi složitou a/nebo má za následek nízké výtěžky, v důsledku nutného optického štěpení surových produktů. Protože sloučeniny podle tohoto vynálezu neobsahují tento přídatný asymetrický atom uhlíku, je možno je získat v dobrých výtěžcích zavedením pyridinylkarbonylového zbytku do požadovaného dipeptidu prostřednictvím jeho terminální aminoskupiny.

Podle nejširšího aspektu tohoto vynálezu jsou jeho předmětem N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I.



včetně jejich tautomerních forem, kde

- n představuje číslo 0 nebo celé číslo s hodnotou 1 až 3;
- R představuje skupinu vzorce OH, SH, COOH, NH₂, halogen, OR₄, SR₄, COOR₄, NHR₄ nebo N(R₄)₂, přičemž symbol R₄ je zvolen ze souboru zahrnujícího alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, fenylskupinu, naftylskupinu a acylskupinu s 1 až 10 atomy uhlíku;
- R₁ představuje skupinu OH, alkoxy skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, která je popřípadě substituována hydroxyskupinou, alkoxy skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku nebo acyloxy skupinou s 1 až 10 atomy uhlíku nebo fenylalkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části;
- R₂ představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo aminoalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku;
- R₃ představuje halogen, nitroskupinu, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo fenylalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části;

a jejich farmaceuticky vhodné soli, s vyloučením sloučenin obecného vzorce I, kde R představuje skupinu vzorce COOH nebo COOR₄, pokud n znamená číslo 0 a karbonyldipeptidová skupina je v poloze 3 pyridinového kruhu.

R₃ v obecném vzorci I může obsahovat jakoukoliv volnou polohu pyridinového jádra.

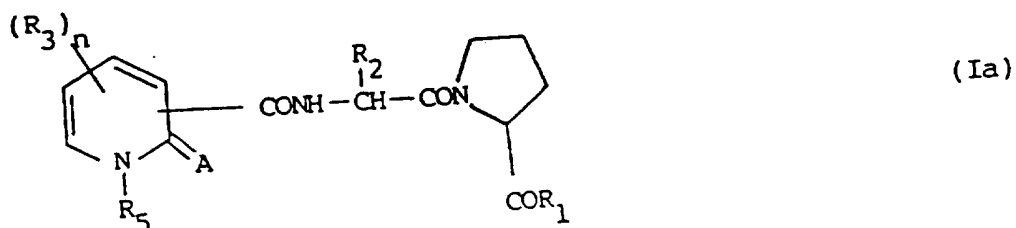
Podobně, substituovaný pyridinový kruh může být vázán ke karbonyl-dipeptidové podstruktuře prostřednictvím poloh alfa-, beta nebo gama pyridinového jádra, přičemž jedna poloha alfa je již obsazena skupinou R.

Farmaceuticky vhodné soli sloučenin obecného vzorce I, například když R₁ představuje hydroxyskupinu a/nebo když R představuje karboxyskupinu, zahrnují soli s alkalickými kovy, jako soli sodné nebo draselné, nebo soli kovů alkalických zemin, jako soli vápenaté. Tyto soli také zahrnují amonné a amoniové soli, tj. soli s amoniakem, substituovanými aminy nebo báziickými aminokyselinami.

Jak je známo v oboru dusíkatých heterocyklů, deriváty pyridinu alfa-substituované hydroxyskupinami nebo merkaptoskupinami jsou obvykle přítomné v tautomerní formě, tj. jako 2-pyridinony nebo 2-pyridinthiony tj. ve formě určitých cyklických karboxamidů a thioamidů. Z tohoto důvodu je třeba chápat, že sloučeniny obecného vzorce I, kde R představuje hydroxyskupinu nebo merkaptoskupinu, mohou také vykazovat tuto tautomerii, přičemž příslušné amidické formy obvykle převažují. V obecném vzorci I je sice znázorněna klasická podoba aromatické struktury, tato strukturní reprezentace však byla zvolena pouze za účelem zjednodušení, protože za jejího použití je možno všechny různé skupiny R zahrnout do jediného obecného vzorce. Kromě toho, tato strukturní reprezentace přímo ukazuje vztah mezi určitými konkrétními skupinami R (například v případě různých skupin obecného vzorce OR₄) a hyd-

roxyskupinou (která není substituována). V oboru chemie pyridinu je známo, že například alfa-alkoxypyridiny je možno hydrolyzovat na odpovídající alfa hydroxypyridiny, tedy na alfa-pyridinonové tautomery, kterým se dává přednost.

Je tedy zřejmé, že obecný vzorec I necharakterizuje specifickou přednostní hydroxy-nebo merkapto-tautomerii v případě, že R představuje skupinu vzorce OH nebo SH. Převažující tautomerní formy v posledně uvedeném případě je naopak možno reprezentovat obecným vzorcem Ia:



kde A představuje skupinu vzorce O nebo S, R_1 , R_2 a R_3 mají shora uvedený význam a R_5 představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu.

V obecném vzorci Ia představují pouze ty sloučeniny, v nichž R_5 znamená atom vodíku, "opravdové" tautomerní formy sloučenin obecného vzorce I, kde R představuje hydroxyskupinu nebo merkaptoskupinu. Sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R_5 představuje nižší alkylskupinu jsou sice také zahrnuty do rozsahu tohoto vynálezu, v přísném smyslu však nepředstavují tautomerní formy sloučenin obecného vzorce I, kde R představuje skupinu obecného vzorce OR_4 nebo SR_5 , kde R_4 představuje tuto nižší alkylskupinu.

Přednostními dipeptidovými deriváty podle tohoto vynálezu jsou deriváty obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0 nebo 1, zejména potom číslo 0,

R představuje skupinu vzorce OH, SH, COOH, Cl, OR_4 , SR_4 , NHR_4 nebo $COOR_4$, kde R_4 znamená substituent zvolený ze souboru zahrnujícího nižší alkylskupinu, arylskupinu nebo acylskupinu; přednostně potom skupinu obecného vzorce OR_6 , SR_6 , Cl, NHR_7 nebo $COOR_8$, kde R_6 představuje atom vodíku, nižší alkylskupinu nebo popřípadě substituovanou fenylskupinu, zejména vodík methylskupinu, ethylskupinu nebo fenylskupinu; R_7 představuje acylskupinu nebo popřípadě substituovanou fenylskupinu, zejména acetylskupinu nebo fenylskupinu; a R_8 představuje atom vodíku nebo nižší alkylskupinu, přednostně atom vodíku, methylskupinu nebo ethylskupinu;

R_1 představuje hydroxyskupinu nebo nižší alkoxyskupinu, zejména hydroxyskupinu, methoxyskupinu nebo ethoxyskupinu;

R_2 představuje nižší alkylskupinu, zejména methylskupinu;

R_3 představuje nitroskupinu a/nebo halogen, zejména brom.

V popisu a nárocích se používá některých pojmů, které mají následující význam:

Pod pojmem "nižší alkylskupina" se rozumí lineární nebo rozvětvená alkylskupina obsahující 1 až 6, přednostně 1 až 4 atomy uhlíku, jako je methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl a butyl, nejvýhodněji potom methyl nebo ethyl.

Pod pojmem "nižší alkoxykupina" se rozumí shora definovaná nižší alkylskupina, která je připojena k atomu kyslíku, přednostně methoxykupina nebo ethoxykupina.

Pod pojmem "halogen" se rozumí fluór, chlór, bróm a jód, přednostně chlor a brom.

Pod pojmem "arylskupina" se rozumí arylová skupina obsahující 6 až 14, zejména 6 až 10 atomů uhlíku, jako je fenylskupina nebo naftylskupina, popřípadě substituovaná jedním nebo více substituenty, které jsou například zvoleny ze souboru zahrnujícího nižší alkylskupinu, jako methylskupinu, nižší alkoxykupinu, jako methoxykupinu, halogen, jako chlor a fluor a nitroskupinu.

Pod pojmem "acylskupina" se rozumí (alkyl-nebo aryl) karbonylskupina, která přednostně obsahuje celkem 1 až 10, s výhodou 2 až 7 atomů uhlíku jako je acetylskupina, propionylskupina, pivaloylskupina a benzoylskupina.

Pod pojmem "substituovaná nižší alkylskupina" se rozumí shora definovaná nižší alkylskupina, přednostně methylskupina nebo ethylskupina, substituovaná jedním nebo více, přednostně jedním nebo dvěma substituenty a zejména potom jedním substituentem zvoleným ze souboru zahrnujícího shora uvedené nižší alkoxykupiny (jako je methoxykupina nebo ethoxykupina), halogen (zejména fluor a chlor), hydroxykupinu, acyloxykupinu (kde acylový zbytek je definován shora a di(nižší alkyl)aminoskupinu (kde nižší alkyl je definován shora. Jako specifické příklady substituovaných nižších alkylskupin je možno uvést 1-acetoxyethyl (axetil), pivaloyloxymethyl (pivoxil) a dimethylaminoethyl.

Pod pojmem "halogen-nižší alkylskupina" se rozumí shora definovaná nižší alkylskupina (zejména methylskupina a ethylskupina), která je substituovaná jedním nebo více atomy halogenu, přednostně zvolenými ze souboru zahrnujícího fluor, chlor a brom, zejména potom fluor a chlor, jako je trifluormethyl, trichlormethyl, dichlormethyl a chlormethyl.

Pod pojmem "aryl-nižší alkylskupina" se rozumí shora definovaná arylskupina (zejména popřípadě substituovaná fenylskupina), která je připojena k nižší alkylskupině definované shora. Jako příklady takových skupin je možno uvést benzylskupinu a 1- a 2-fenylethylskupinu.

Pod pojmem "disubstituovaná aminoskupina" se rozumí aminoskupina, jejíž oba vodíkové atomy jsou nahrazeny uhlíkatými skupinami, zejména nižšími alkylskupinami ve smyslu shora uvedené definice. Jako specifické příklady takových skupin je možno uvést dimethylaminoskupinu a diethylaminoskupinu.

Zbývající termíny je možno odvodit ze shora uvedených definic. Tak například pod označením "substituovaná nižší alkokyskupina" se rozumí substituovaná nižší alkylskupina definovaná shora, která je připojena k atomu kyslíku.

Pokud n v obecném vzorci I má hodnotu 1, je skupina R_3 umístěna v beta-poloze pyridinového jádra, zejména potom v beta-poloze proti alfa-poloze obsazené skupinou R.

Sloučeniny obecného vzorce I, stejně tak jako podskupina sloučenin, již lze charakterizovat obecným vzorcem Ia, obsahují dvě asymetrická centra dipeptidové podstruktury a jsou proto schopny existovat v několika stereoisomerních formách. Do rozsahu tohoto vynálezu sice spadají všechny tyto jednotlivé stereoisomerní formy a jakékoliv jejich směsi, přednost se však dává sloučeninám, v nichž jsou obě asymetrická centra v konfiguraci "S".

Sloučeniny obecného vzorce I jsou inhibitory enzymu konvertujícího angiotensin a jsou užitečnými antihypertenzními činidly pro savce, včetně lidí. Také je jich možno použít při léčbě kongestivního srdečního selhání a jiných poruch, které jsou pathofysiologicky spojeny se systémem renin-angiotensin-aldosteron.

Dalším předmětem tohoto vynálezu jsou tedy farmaceuticky vhodné přípravky obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I, v kombinaci s jedním nebo více farmaceuticky vhodnými nosiči nebo excipienty a popřípadě adjuvanty a/nebo komplementárními činidly, atd., v pevné nebo kapalně formě a přednostně v jednotkové dávkovací formě. Přípravky podle tohoto vynálezu jsou nejúčelněji přizpůsobeny pro orální podávání, přestože v některých případech mohou být dokonce výhodnější jiné způsoby podávání, jako je podávání parenterální, rektální nebo inhalační.

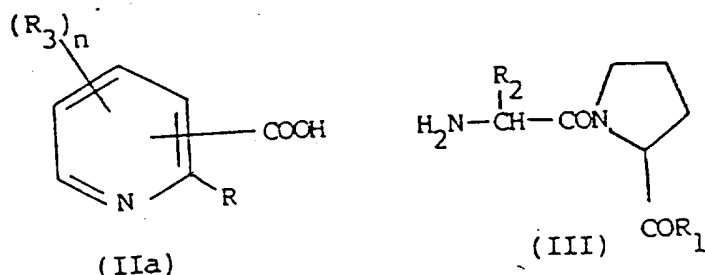
Farmaceutické přípravky podle vynálezu je možno připravovat konvenčními postupy, například jednoduchým smísením složek, které mají tvořit požadovaný přípravek. Jako nosičů nebo excipientů se používá konvenčních látek, které jsou dobře známy odborníkům v tomto oboru. Pro orální podávání se nejlépe hodí přípravky ve formě tablet (potažených nebo nepotažených), kapsle nebo kapaliny, jako jsou roztoky, sirupy nebo suspenze. Orální pevná léková forma může být konvenčního typu, tj. s rychlým uvolňováním nebo může být upravena tak, že se z ní účinná látka uvolňuje retardovaně.

Pro léčení hypertenze a/nebo jiných možných poruch, u nichž může být užitečná biologická účinnost sloučenin podle tohoto vynálezu, mohou být vhodné dávky, které se řádově pohybují od 2 do 1 000 mg na pacienta za den. Tyto dávky mohou být podávány najednou nebo ve formě několika dílčích dávek. Individuální úroveň dávkování se u každého pacienta bude lišit v závislosti na účinnosti specificky použité sloučeniny, typu a ostrosti onemocnění a individuálních faktorech pacienta, jako je jeho tělesná hmotnost a pohlaví a na dalších faktorech, které jsou odborníkům v tomto oboru dobře známy. Pro léčení hypertenze bude dávka přednostně ležet v rozmezí od 5 do 500 mg na pacienta za den.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu je také možno podávat v kombinaci s jinými farmaceuticky účinnými sloučeninami, například antihypertenzními činidly nebo jinými činidly, které jsou užitečné při terapii kardiovaskulárních onemocnění, jako jsou diuretika a beta-adrenergické blokátory. Tyto jiné účinné sloučeniny je také možno zapracovat do farmaceutických přípravků podle tohoto vynálezu, spolu s novými sloučeninami obecného vzorce I.

Sloučeniny obecného vzorce I je možno připravovat jedním nebo více způsoby, které jsou popsány níže. Odborníkům v tomto oboru bude zřejmé, že je také možno použít i jiných dobře známých syntetických postupů peptidové chemie.

První způsob (způsob A) zahrnuje kondenzaci karboxylové kyseliny obecného vzorce IIa s dipeptidem obecného vzorce III



kde R, R₁, R₂, R₃ a n mají shora uvedený význam, s tím rozdílem, že R nepředstavuje karboxyskupinu a R₁ nepředstavuje hydroxyskupinu, přednostně za přítomnosti ekvimolárního množství vhodného kondenzačního činidla, jako je například karbodiimid, zejména N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (DCC). Reakce se obvykle provádí ve vhodném bazickém organickém rozpouštědle a při teplotě místnosti.

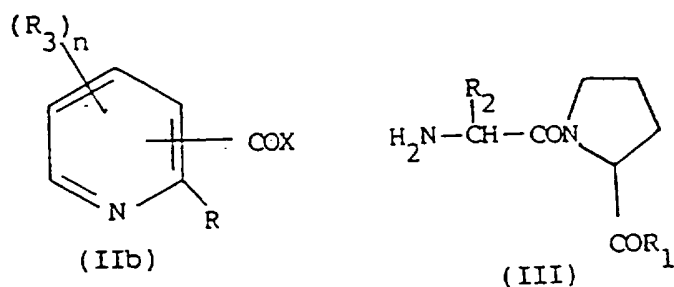
Dipeptidu obecného vzorce III se přednostně používá ve formě esteru, jako nižšího alkylesteru. Volná aminoskupina se popřípadě může převést na sůl pomocí kyseliny chlorovodíkové. Jako příklady vhodných bazických organických rozpouštědel je možno uvést pyridin a směs terciárního alifatického aminu, například triethylaminu, s inertním, přednostně halogenovaným, rozpouštědlem, jako je chloroform nebo methylenchlorid. Když se vychází z přednostního esterifikovaného dipeptidu, získá se požadovaná sloučenina obecného vzorce I ve formě monoesteru (v L-prolinové podstruktuře), pokud je skupina R odlišná od skupiny COOR₄, nebo ve formě diesteru, pokud se použije sloučeniny obecného vzorce IIa, kde R představuje skupinu obecného vzorce COOR₄, kde R₄ představuje alkylskupinu nebo arylskupinu.

Je zřejmé, že když má výchozí dipeptid přídatnou aminoskupinu, tj., když R₂ představuje amino-nížší alkylskupinu, musí být tato přídatná aminoskupina přítomna v chráněné formě, například ve formě chráněné benzyloxykarbonylskupinou nebo jakoukoliv jinou skupinou, která je snadno odštěpitelná standardními postupy, které jsou dobře známy odborníkům v tomto oboru.

Podle variace postupu A se může pracovat v podstatě stejným způsobem, pouze s tím rozdílem, že se místo dipeptidu obecného vzorce III použije esterifikované aminokyseliny obecného vzorce $H_2N-CH(R_2)-COR_1$. Takto získaný ester N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonylaminokyseliny se potom může hydrolýzovat a výsledná volná kyselina se nechá reagovat s esterem L-prolinu reakcí za použití DCC nebo jakýmkoliv jiným postupem, kterého se obvykle používá pro kondenzaci aminokyselin.

Specifické sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R_5 představuje nižší alkylskupinu, se také mohou získat postupem A nebo jeho variacemi. V tomto případě se jako výchozí látky používá příslušné 1-alkyl-1,alfa-dihydro-alfa-(oxo-nebo thioxo)pyridinkarboxylové kyseliny.

Sloučeniny obecného vzorce I je také možno připravovat reakcí acylhalogenidu obecného vzorce IIb s dipeptidem obecného vzorce III nebo například jeho hydrochloridem (postup B):



kde X představuje halogen, jako chlor a R_1 , R_2 , R_3 a n mají shora uvedený význam. Pokud je symbol R_1 odlišný od hydroxyskupiny, provádí se reakce přednostně za přítomnosti organické báze, jako je triethylamin, zatímco pokud R_1 představuje hydroxyskupinu, používá se anorganické báze, jako hydroxidu nebo uhličitanu alkalického kovu nebo jejich směsí.

Pokud má výchozí dipeptid obecného vzorce III derivatizovanou karboxyskupinu a používá se organické báze (postup B-a), provádí se reakce obvykle ve vhodném nepolárním rozpouštědle, jako je chloroform, methylenchlorid nebo dioxan. Pokud tento dipeptid obsahuje volnou karboxylovou skupinu (postup B-b), s výhodou se používá dvoufázového systému. Tento dvoufázový systém obvykle obsahuje vodný roztok anorganické báze a roztok acylhalogenidu ve vhodném organickém rozpouštědle, jako je acetonitril, jako druhou fázi.

Pokud výchozí sloučeniny obecného vzorce IIa nebo IIb obsahují dvě vicinální karboxyskupiny nebo skupiny, které jsou od karboxyskupiny odvozeny, tj. pokud R představuje karboxyskupinu nebo skupinu obecného vzorce $COOR_4$ a poloha 3 je obsazena karboxyskupinou nebo skupinou obecného vzorce COX, mohou postupy A nebo B vést ke vzniku cyklických imidů, jestliže jsou reakční podmínky (teplota a reakční doba) takové, že favorizují intramolekulární cyklizaci reakčních produktů. V tomto případě se dává

přednost mírným reakčním podmínkám a zejména nízkým teplotám, aby se minimalizovala tvorba cyklizačních vedlejších produktů.

Tak jako je tomu při postupu A, pokud se postupem B zpracovává dipeptid obecného vzorce III, kde R_2 představuje aminonížší alkylskupinu, musí se před provedením reakce tato přídavná aminoskupina chránit snadno odštěpitelnou skupinou.

Postupu B (a nebo b) se také může používat pro přípravu sloučenin obecného vzorce Ia, kde R_5 představuje nižší alkylskupinu. V tomto případě se dipeptid obecného vzorce III nechává reagovat s odpovídajícím 1-alkyl-1, alfa-dihydro-alfa-(oxo-nebo thioxo)pyridinkarbonylhalogenidem.

Specifická podskupina N-(alfa-merkaptopyridinyl)karbonyldipeptidů, tj. sloučeniny obecného vzorce I, kde R představuje skupinu SH (nebo kde A představuje síru a R_5 představuje vodík ve sloučeninách obecného vzorce Ia) se postupem C také může získat ve vysokých výtěžcích. Přitom se postupuje tak, že se sloučenina obecného vzorce I, kde R představuje halogen, zahřívá s thiosulfátem sodným ve vhodném vodně-alkoholickém prostředí, jako ve směsi vody a 1,2-propylenglykolu.

Ať již se pracuje kterýmkoliv z postupů A až C, které byly popsány shora, pokud se nové sloučeniny podle tohoto vynálezu získají ve formě monoesterů (v prolinovém zbytku) nebo diesterů (alfa-substituce v pyridinovém zbytku karboxyesterovou skupinou), tj. pokud se získají sloučeniny obecného vzorce I, kde pouze jedna nebo obě skupiny obecného vzorce COR_1 a R představuje esterifikovanou karboxylovou skupinu, je možno tyto sloučeniny převádět na odpovídající volné mono- nebo dikarboxylové kyseliny hydrolýzou, například za použití alkalického hydroxidu v polárním prostředí. Typické podmínky hydrolýzy zahrnují použití hydroxidu draselného rozpuštěného v nižším alifatickém alkoholu (například alkoholu s 1 až 3 atomy uhlíku), samotném nebo jeho směsi s vodou. Přednostním alkoholem je ethanol.

Pyridinkarboxylové kyseliny obecného vzorce IIa, zejména ty, v nichž R představuje halogen, jsou obchodně dostupné nebo je možno je připravit dobře známými syntetickými postupy. Halogenidy kyselin obecného vzorce IIb je možno snadno získat standardními postupy z odpovídajících výchozích kyselin obecného vzorce IIa.

Také výchozí dipeptidy obecného vzorce III jsou obchodně dostupné produkty nebo produkty, které je možno snadno získat postupy, kterých se běžně používá v chemii peptidů.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezují.

Spektra 1H -NMR a ^{13}C -NMR byla zaznamenávána při 199,975 MHz a 50,289 MHz pomocí spektrometru XR-200 Varian. Hodnoty chemického posunu jsou uváděny jako delta-hodnoty vzhledem k tetramethylsilanu, kterého bylo použito jako vnitřního standardu. Analýzy chromatografií na tenké vrstvě byly prováděny za použití předem

povlečených desek silikagelu Merck 60 R_{254} a skvrny byly detegovány ozařováním IČ světlem. Při chromatografii na tenké vrstvě bylo použito následujících rozpouštědel:

A	ethylacetát
B	ethylacetát/aceton, 3/1
C	aceton
D	absolutní ethanol
E	ethanol/kyselina octová 3%
F	ethanol/kyselina octová 5%

Použité rozpouštědlo je vždy charakterizováno v závorce příslušným písmenným symbolem.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Syntéza ethylesteru N-[(6-chlor-2-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinu (sloučenina č. 1).

Roztok hydrochloridu ethylesteru L-alanyl-L-prolinu (6 g, 0,024 mol) a triethylaminu (7,4 ml) v bezvodém methylenchloridu (120 ml) se ochladí v ledové lázni. Potom se k tomuto roztoku za míchání přikape roztok 6-chlor-2-pyridin-karbonylchloridu (5,1 g, 0,029 mol) v bezvodém methylenchloridu (30 ml). Po skončení přidavku se roztok 3 hodiny míchá při teplotě místnosti a vzniklá reakční směs se zředí 400 ml methylenchloridu. Výsledný roztok se třikrát promyje 200 ml 10% vodného roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného a dvakrát 200 ml vody. Organická vrstva se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Získá se titulní sloučenina ve formě bezbarvého oleje. Výtěžek činí 99 %.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,24 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,47 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,70 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,15 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,50 (m, 1H, CH prolin), 4,90 (m, 1H, CH alanin, převeden na q, $J=6,8$ Hz, po protřepání s D_2O), 7,40 (dd, $J_1=7$ Hz, $J_2=1$ Hz, 1H, ar), 7,75 (dd $J_1=J_2=7$ Hz, 1H, ar C-4), 8,02 (dd, $J_1=7$ Hz, $J_2=1$ Hz, 1H, ar), 8,50 (br d, 1H, NH, zmizí po protřepání s D_2O).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 13,9 (CH_3 ethylester), 17,7 (CH_3 alanin), 24,8 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 28,8 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 46,7 (CH alanin a N-CH_2 prolin), 58,9 (CH prolin), 61,1 (CH_2 ethylester), 120,9 (ar C-3), 127,2 (ar C-5), 139,9 (ar, C-4), 150,2 (ar), 150,4 (ar), 162,5 (CO), 171,0 (CO), 172,1 (CO).

TLC (B) : $R_f=0,46$.

Podobným způsobem se syntetizují následující sloučeniny:
 N-[(2-Chlor-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethyl-ester
 (sloučenina číslo 2)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,28 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,54 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,73 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,19 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethyl-ester), 4,54 (m, 1H, CH prolin), 4,96 (m, 1H, CH alanin), 7,34 (dd, $J_1=7,7$ Hz, $J_2=4,8$ Hz, 1H, ar C-5), 7,55 (br d, 1H, NH), 8,05 (dd $J_1=7,7$ Hz, $J_2=2$ Hz, 1H, ar C-4), 8,47 (dd, $J_1=4,8$ Hz, $J_2=2$ Hz, 1H, ar C-6).

TLC(B): $R_f=0,37$.

N-[(2-Chlor-4-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester
 (sloučenina číslo 3).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,27 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,50 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,77 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,22 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethyl-ester), 4,57 (m, 1H, CH prolin), 4,91 (m, 1H, CH alanin), 7,51 (dd, $J_1=5,1$ Hz, $J_2=1$ Hz, 1H, ar C-R), 7,66 (d, $J=1$ Hz, 1H, ar C-3), 8,09 (d, $J=7,2$ Hz, 1H, NH), 8,43 (d, $J=5,1$ Hz, 1H, ar C-6).

TLC(B): $R_f=0,47$.

N-[(6-chlor-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethyl-ester
 (sloučenina číslo 4).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,27 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,48 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,15 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,70 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,17 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethyl-ester), 4,54 (m, 1H, CH prolin), 4,94 (m, 1H, CH alanin), 7,32 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, ar C-5), 8,03 (dd, $J_1=8,4$ Hz, $J_2=2,4$ Hz, 1H, ar C-4), 8,78 (d, $J=2,4$ Hz, 1H, ar C-2).

TLC(B): $R_f=0,46$.

Příklad 2

Syntéza ethylesteru N-[(1,2-dihydro-2-thioxo-4-pyridinyl)karbo-
 nyl]-L-alanyl-L-prolinu (sloučenina číslo 5)

K roztoku 4,5 g (0,013 mol) ethylesteru N-[(2-chlor-4-pyri-
 dinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinu (sloučenina č. 3) v 45 ml smě-
 si 1,2-propylenglykolu a vody v poměru 10:1 se přidá 15,2 g thio-
 síranu sodného a směs se zahřívá pod refluxem po dobu 15 hodin.
 Výsledná reakční směs se zředí 100 ml vody a extrahuje čtyřmi
 100 ml dávkami methylenchloridu. Organická vrstva se třikrát pro-
 myje 100 ml vody, vysuší bezvodým síranem hořečnatým a rozpouš-
 tědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Získaný zbytek se pře-

čistí krystalizací ze směsi acetonu a petroletheru, přičemž se získá titulní produkt ve formě žluté pevné látky (výtěžek : 85 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,27 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,68 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,75 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,28 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,55 (m, 1H, CH prolin), 4,75 (m, 1H, CH alanin, převeden na q, $J=6,8$ Hz, po protřepání s D_2O), 6,78 (dd, $J_1=6,6$ Hz, $J_2=1,6$ Hz, 1H, ar C-5), 7,31 (d, $J=6,6$ Hz, 1H, ar C-6), 7,88 (d, $J=1,6$ Hz, 1H, ar C-3), 8,70 (br d, 1H, amidická NH, zmizí po protřepání s D_2O).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 13,9 (CH_3 ethylester), 15,5 (CH_3 alanin), 24,7 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 28,7 ($\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 46,8 (N-CH_2 prolin), 48,1 (CH alanin), 59,2 (CH prolin), 61,2 (CH_2 ethylester), 111,8 (ar C-5), 130,9 (ar-C-3), 137,1 (ar C-6), 139,7 (ar, C-4), 165,0 (CO), 171,7 (CO), 172,9 (CO), 178,7 (CS).

TLC(C): $R_f=0,50$

Podobným způsobem se také syntetizují následující sloučeniny:

N-[(1,2-Dihydro-2-thioxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 6).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,21 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,54 (d, $J=6,9$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,75 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,12 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,55 (m, 1H, CH prolin), 4,85 (m, 1H, CH alanin), 6,72 (dd, $J=6,1$ Hz, $J_2=7,6$ Hz, 1H, ar C-5), 7,65 (dd $J_1=6,1$ Hz, $J_2=1,7$ Hz, 1H, ar C-4), 8,46 (dd, $J_1=7,6$ Hz, $J_2=1,7$ Hz, 1H, ar C-6), 11,15 (br d, 1H, NH).

TLC(C): $R_f=0,47$

N-[(1,6-Dihydro-6-thioxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 7).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,17 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,51 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3 alanine), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,72 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,13 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,50 (m, 1H, CH prolin), 4,72 (m, 1H, CH alanin), 7,19 (d, $J=9,0$ Hz, 1H, ar C-5), 7,56 (dd, $J_1=9,0$ Hz, 1H, ar C-4), 7,83 (d, $J=2$ Hz, 1H, ar C-2), 8,27 (br d, 1H, NH).

TLC(C): $R_f=0,55$

Příklad 3

Syntéza ethylesteru N-[(2-ethoxykarbonyl-6-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinu (sloučenina číslo 8).

K míchanému roztoku 4,31 g (0,022 mol) 6-ethoxykarbonyl-2-pyridinkarboxylové kyseliny ve 100 ml bezvodého pyridinu se přidá 5,5 g (0,022 mol) hydrochloridu ethylesteru L-alanyl-L-prolinu a 4,6 g N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu. V míchání se pokračuje po dobu 20 minut při teplotě místnosti a potom se objemná sraženina dicyklohexylmočoviny odfiltruje a promyje acetone. Z filtrátu a promývací kapaliny se rozpouštědlo oddestiluje za sníženého tlaku a získaný surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití chloroformu a acetonu v poměru 10:1, jako elučního činidla. Izolovaná pevná látka se překrystaluje ze směsi acetonu, isopropyletheru a petroletheru, přičemž se získá 4,27 g požadovaného produktu ve formě jehličkovitých krystalů (výtěžek: 53 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,28 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 alifatický ester), 1,46 (t, 3H, $J=7,2$ Hz, CH_3 aromatický ester), 1,55 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,15 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,75 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,21 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 alifatický ester), 4,48 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 aromatický ester), 4,53 (m, 1H, CH prolin), 5,00 (m, 1H, CH alanin, převeden na q, $J=6,8$ Hz, po protřepání s D_2O), 7,99 (dd, $J_1=J_2=7,6$ Hz, 1H, ar C-4), 8,22 (dd, $J_1=7$ Hz, $J_2=1$ Hz, 1H, ar), 8,33 (dd, $J_1=7,6$ Hz, $J_2=1$ Hz, 1H, ar), 8,70 (br d, 1H, amidická NH, zmizí po protřepání s D_2O).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 14,1 (CH_3 ethylester), 14,2 (CH_3 ethylester), 17,8 (CH_3 alanin), 24,9 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 29,0 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 46,9 (CH alanin a N-CH_2 prolin), 59,3 (CH prolin), 61,3 (CH_2 ethylester), 62,4 (CH_2 ethylester), 125,5 (ar), 127,6 (ar), 138,7 (ar, C-4), 147,6 (ar), 150,1 (ar), 163,5 (CO), 165,0 (CO), 171,2 (CO), 172,4 (CO).

TLC(B): $R_f=0,63$

Podobným způsobem se syntetizují také následující sloučeniny: N-[(2-Methoxykarbonyl-5-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 9).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,26 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 alifatický ethylester), 1,51 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,80 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,03 (s, 3H, CH_3 aromatický methylester), 4,17 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,55 (m, 1H, CH prolin), 4,99 (m, 1H, CH alanin), 8,12 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, ar C-3), 8,26 (dd, $J_1=8,4$ Hz, $J_2=2,0$ Hz, 1H, ar C-4), 8,43 (d, $J=7,4$ Hz, 1H, NH), 9,12 (d, $J=2,0$ Hz, 1H, ar C-6).

TLC(B): $R_f=0,36$

N-[(2-Methoxy arbonyl-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 10).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,23 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,50 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,70 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 3,94 (s, 3H, CH_3 methylester), 4,15 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethyl ester), 4,50 (m, 1H, CH prolin), 4,80 (m, 1H, CH alanin), 7,0 (br d, 1H, NH), 7,45 (dd, $J_1=7,8$ Hz, $J_2=4,7$ Hz, 1H, ar C-5), 7,84 (dd, $J_1=7,8$ Hz, $J_2=1,7$ Hz, 1H, ar, C-4), 8,70 (dd, $J_1=4,7$ Hz, $J_2=1,7$ Hz, 1H, ar, C-6).

TLC(B): $R_f=0,27$

N-[(5-Brom-1,2-dihydro-2-oxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 11).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,28 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,53 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,75 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,20 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,60 (m, 1H, CH prolin), 4,88 (m, 1H, CH alanin), 7,71 (d, $J=2,8$ Hz, 1H, ar C-4), 8,48 (d, $J=2,8$ Hz, 1H, ar C-6), 10,10 (br d, 1H, amidická NH).

TLC(D): $R_f=0,76$

N-[(1,2-Dihydro-2-oxo-4-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 12).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,21 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,47 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,75 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,12 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,50 (m, 1H, CH prolin), 4,80 (m, 1H, CH alanin), 6,51 (dd, $J_1=6,7$ Hz, $J_2=1,2$ Hz, 1H, ar C-5), 6,97 (d, $J=1,2$ Hz, 1H, ar C-3), 7,25 (d, $J=6,7$ Hz, 1H, ar C-6), 8,46 (br d, 1H, amidická NH).

TLC(D): $R_f=0,49$

N-[(1,6-Dihydro-6-oxo-2-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 13).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,22 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,48 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,57 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,17 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,48 (m, 1H, CH prolin), 4,90 (m, 1H, CH alanin), 6,73 (dd, $J_1=9,2$ Hz, $J_2=0,8$ Hz, 1H, ar C-5), 6,91 (dd, $J=7,0$ Hz,

$J_2=1,0$ Hz, 1H, ar C-3), 7,44 (dd, $J_1=9,0$ Hz, $J_2=7,0$ Hz, 1H, ar C-4), 8,46 (br d, 1H, amidická NH).

TLC(C): $R_f=0,43$

N-[(1,6-Dihydro-6-oxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 14).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,22 (t, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,40 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,75 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,10 (q, $J=7,0$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,50 (m, 1H, CH prolin), 4,85 (m, 1H, CH alanin), 6,34 (d, $J=9,0$ Hz, 1H, ar C-5), 7,80 (d, $J=8,8$ Hz, 1H, ar C-4), 7,97 (s, 1H, ar C-2), 8,65 (d, $J=6,8$ Hz, amidická NH).

TLC(D): $R_f=0,50$

N-[(2-fenoxy-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinethylester (sloučenina číslo 15).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,15 (t, $J=7,1$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,30 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 4,03 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,05 (q, $J=7,1$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,33 (m, 1H, CH prolin), 4,80 (m, 1H, CH alanin), 7,21 (m, 5H, O-Ph), 7,42 (m, 2H, ar), 8,23 (m, 1H, ar), 8,78 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, amidická NH).

TLC(A): $R_f=0,39$

N-[(2-fenylthio-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinethylester (sloučenina číslo 16).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): 1,16 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,32 (d, $J=7,0$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 1,96 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,69 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,06 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,35 (m, 1H, CH prolin), 4,72 (m, 1H, CH alanin), 7,21 (dd, $J_1=8,0$ Hz, $J_2=4,8$ Hz, 1H, ar C-5), 7,40 (m, 5H, -S-Ph), 7,88 (dd, $J_1=7,6$ Hz, $J_2=1,8$ Hz, 1H, ar C-4), 8,33 (dd, $J_1=4,8$ Hz, $J_2=1,8$ Hz, 1H, ar C-6), 8,87 (d, $J=8,0$ Hz, 1H, amidická NH).

TLC(A): $R_f=0,33$

N-[(2-fenylamino-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinethylester (sloučenina číslo 17).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): 1,14 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,19 (d, $J=6,6$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 1,72 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,70 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,03 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,20 (m, 1H, CH prolin), 4,56 (m, 1H, CH alanin), 7,22 (m, 5H, ar), 7,45 (dd, $J_1=6,0$ Hz, $J_2=4,6$ Hz, 1H, ar C-5), 7,60

(d, $J = 8$ Hz, 1H, NH), 8,08 (m, 1H, ar), 8,47 (dd, $J_1 = 4,8$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz, 1H, ar C-6), 8,91 (s, 1H, amidická NH).

TLC(A): $R_f = 0,22$

N-[(1,2-Dihydro-5-nitro-2-oxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 18).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO): 1,17 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,29 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,60 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,12 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,32 (m, 1H, CH prolin), 4,78 (m, 1H, CH alanin), 8,77 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H, ar C-4), 8,89 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H, ar C-6), 10,01 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H, NH).

TLC(D): $R_f = 0,74$

N-[(1,2-Dihydro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin-ethylester (sloučenina číslo 19).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,16 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,28 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,45 (s, 3H, N-CH_3), 3,60 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,06 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,31 (m, 1H, CH prolin), 4,76 (m, 1H, CH alanin), 6,48 (dd, $J_1 = J_2 = 7,0$ Hz, 1H, ar C-5), 8,06 (dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,2$ Hz, 1H, ar C-4), 8,29 (dd, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 2,2$ Hz, 1H, ar C-6), 10,23 (br d, 1H, NH).

TLC(D): $R_f = 0,51$

N-[(2-Acetylamino-4-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinethylester (sloučenina číslo 20).

$^1\text{H-NMR}$ ($d_6\text{-DMSO}$): 1,17 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,33 (d, $J = 7$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 1,96 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 2,11 (s, 3H, CH_3 acetylamino), 3,67 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,07 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,33 (m, 1H, CH prolin), 4,72 (m, 1H, CH alanin), 7,49 (d, $J = 5$ Hz, 1H, ar (C-5), 8,41 (s, 1H, ar C-3), 8,43 (d, $J = 5$ Hz, 1H, ar C-6), 8,91 (br d, 1H, NH, zmizí po protřepání s D_2O), 10,66 (br s, 1H, NH acetylamino, zmizí po protřepání s D_2O).

TLC(B): $R_f = 0,25$

Příklad 4

Syntéza ethylesteru N-[(1,2-dihydro-2-oxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinu (sloučenina číslo 21)

K míchanému roztoku 4,0 g (0,016 mol) hydrochloridu ethylesteru L-alanyl-L-prolinu a 8 ml triethylaminu ve 200 ml dioxanu, který se udržuje při teplotě místnosti, se v průběhu jedné hodiny přikape suspenze 3,0 g (0,019 mol) 2-hydroxynikotinoylchloridu ve 200 ml bezvodého dioxanu. Po třech hodinách dalšího míchání při teplotě místnosti se rozpouštědlo oddestiluje za sníženého tlaku. Takto získaný surový produkt se rozpustí v 500 ml chloroformu a vzniklý roztok se dvakrát promyje 100 ml 5% vodného roztoku uhličitanu sodného. Organická vrstva se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří v rotačním odpařováku. Vzniklá pevná látka se nechá vykristalovat ze směsi methylenchloridu a isopropyletheru. Získá se 3,4 g sloučeniny jmenované v nadpisu ve formě bílé mikrokrytalické látky (výtěžek: 64 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1,23 (t, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3 ethylester), 1,47 (d, $J=6,8$ Hz, 3H, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,70 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,18 (q, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2 ethylester), 4,50 (m, 1H, CH prolin), 4,92 (m, 1H, CH alanin, převeden na q, $J=6,8$ Hz, po protřepání s D_2O), 6,44 (dd, $J_1=7,4$ Hz, $J_2=6,2$ Hz, 1H, ar C-5), 7,65 (dd, $J_1=6,2$ Hz, $J_2=2,2$ Hz, 1H, ar C-4), 8,48 (dd $J_1=7,4$ Hz, $J_2=2,2$ Hz, 1H, ar C-6), 10,20 (br d, 1H, amidická NH vymizí po protřepání s D_2O).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): 13,9 (CH_3 ethylester), 17,6 (CH_3 alanin), 24,7 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 28,8 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 46,9 (N-CH_2 prolin), 47,1 (CH alanin), 58,9 (CH prolin), 61,0 (CH_2 ethylester), 107,4 (ar C-5), 120,9 (ar C-3), 138,9 (ar C-6), 145,1 (ar C-4), 163,4 (CO), 163,9 (CO), 171,7 (CO), 172,2 (CO).

TLC(C): $R_f=0,36$

Příklad 5

Syntéza N-[(6-chlor-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinu (sloučenina číslo 22)

L-alanyl-L-prolin (1,0 g, 5,4 mmol) se rozpustí ve směsi 10,8 ml 0,5N roztoku hydroxidu draselného a 750 mg (5,4 mmol) bezvodého uhličitanu draselného, potom se ke vzniklé směsi přidá 10 ml acetonitrilu. Směs se ochladí v ledové lázni a potom se k ní přikape koncentrovaný acetonitrilový roztok 1,2 g 6-chlor-nikotinoylchloridu za míchání a udržování hodnoty pH směsi na 12 až 13 přidáváním 1N roztoku hydroxidu draselného podle potřeby. V míchání při teplotě místnosti se pokračuje další dvě hodiny, potom se roztok neutralizuje na pH 6 vodnou kyselinou chlorovodíkovou a rozpouštědlo se oddestiluje za sníženého tlaku. Takto získaný zbytek se suspenduje v 50 ml absolutního ethanolu, zbývající chlorid draselný se oddělí odstředěním a z čirého roztoku se rozpouštědlo oddestiluje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití absolutního ethanolu jako elučního činidla. Izoluje se 700 mg požadovaného produktu (výtěžek: 40 %).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO + D_2O): 1,26, 1-32 (dva d, $J=6,8$ Hz, CH_3 alanin), 1,90 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,50 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,15 (m, 1H, CH prolin), 4,70 (m, 1H, CH alanin), 7,62 (dd, $J_1=8,2$ Hz, $J_2=3,0$ Hz, 1H, ar C-5), 8,32 (dd, $J_1=8,2$ Hz, $J_2=1$ Hz, 1H, ar C-4), 8,87 (d, $J=3,0$ Hz, 1H, ar C-2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO+ D_2O)*: 16,6, 18,1 (CH_3 alanin), 22,3, 24,7 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 29,4, 31,7 ($\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 46,8, 47,6, 47,7 (N-CH_2 prolin a CH alanin), 61,1, 61,9 (CH prolin), 124,8 (ar C-5), 129,6 (ar C-3), 139,6 (ar C-4), 149,9 (ar C-2), 153,4 (ar C-6), 164,5 (CO amidová vazba pyridinový kruh-dipeptid), 171,2, 170,7 (CO peptidová vazba), 175,6 (COOH prolin).

TLC(E): $R_f=0,54$

Podobně se připraví následující sloučenina:

N-[(2-Ethoxy-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin (sloučenina číslo 23).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO + D_2O)*: 1,26, 1,32 (two d, $J=6,8$ Hz, CH_3 alanin), 1,90 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,50 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,15 (m, 1H, CH prolin), 4,70 (m, 1H, CH alanin), 7,62 (dd, $J_1=8,2$ Hz, $J_2=3,0$ Hz, 1H, ar C-3), 8,32 (dd, $J_1=8,2$ Hz, $J_2=1$ Hz, 1H, ar C-4), 8,87 (d, $J=3,0$ Hz, 1H, ar C-6).

TLC(D): $R_f=0,35$

Příklad 6

Syntéza N-[(6-chlor-2-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolinu (sloučenina číslo 24)

Roztok 4,5 g (0,013 mol) ethylesteru N-[(6-chlor-2-pyridinyl)karbonyl]-alanyl-L-prolinu (viz příklad 1) ve 42 ml 1N ethanolickeho roztoku hydroxidu draselného se po dobu 3 hodin míchá při teplotě místnosti. Výsledná reakční směs se zředí 250 ml absolutního ethanolu a neutralizuje 6N ethanolickeou kyselinou chlorovodíkovou. Vzniklá sraženina chloridu draselného se odfiltruje, několikrát promyje absolutním ethanolem a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití ethanolu jako elučního činidla. Získá se sloučenina jmenovaná v nadpisu ve formě bezbarvé pevné látky (výtěžek: 73 %).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO)*: 1,36, 1,32 (dva d, $J=6,8$ Hz, CH_3 alanin), 2,10 (m, 4H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ prolin), 3,65 (m, 2H, N-CH_2 prolin), 4,30, (m, 1H, CH prolin), 4,51, 4,75 (two m, 1H, CH alanin), 7,78 (dd, $J_1=7,4$ Hz, $J_2=1,6$ Hz, 1H, ar), 8,03 (dd, $J_1=7,4$ Hz, $J_2=1,6$ Hz, 1H, ar), 8,10 (dd, $J_1=J_2=7,4$ Hz, 1H, ar C-4), 8,70 (br d, 1H,

amidická NH, zmizí po protřepání s D₂O).

¹³C-NMR (DMSO)*: 17,3, 18,6 (CH₃ alanin), 21,8, 24,6, (N-CH₂-CH₂ prolin), 28,6, 30,8 (N-CH₂-CH₂-CH₂ prolin), 46,3, 46,5, 46,7, 46,8 (N-CH₂ prolin a CH alanin), 58,7, 59,3 (CH prolin), 121,5 (C-3 ar), 127,8 (C-5 ar), 141,9 (C-4 ar), 149,6 (ar), 150,4 (ar), 161,8 (CO amidická vazba pyridinový kruh-dipeptid), 170,3, 170,9 (CO peptidická vazba), 173,5, 173,8 (COOH prolin).

TLC(E): R_f=0,55

*: Duplicita signálů je způsobena přítomností isomerů z-cis a z-trans v peptidové vazbě L-Ala-L-Pro.

Stejným postupem se z odpovídajících esterů získají také následující volné kyseliny:

N-[(2-chlor-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 25), TLC(E): R_f=0,49

N-[(2-chlor-4-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 26), TLC(E): R_f=0,55

N-[(1,2-dihydro-2-thioxo-4-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 27), TLC(E): R_f=0,46

N-[(1,2-dihydro-2-thioxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 28), TLC(E): R_f=0,45

N-[(1,6-dihydro-6-thioxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 29), TLC(E): R_f=0,51

N-[(2-karboxy-6-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 30), TLC(D): R_f=0,29

N-[(2-karboxy-5-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 31), TLC(D): R_f=0,25

N-[(2-karboxy-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 32), TLC(D): R_f=0,18

N-[(1,2-dihydro-2-oxo-4-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 33) TLC(F): R_f=0,34

N-[(1,6-dihydro-6-oxo-2-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 34), TLC(F): R_f=0,40

N-[(1,6-dihydro-6-oxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 35), TLC(F): R_f=0,37

N-[(1,2-dihydro-2-oxo-3-pyridinyl)karbonyl]-L-alanyl-L-prolin,
(sloučenina č. 36),

TLC(F): R_f=0,37

Struktura shora uvedených mono- a dikarboxylových kyselin se potvrdí jejich spektroskopickými daty.

Příklad 7

Farmakologické výsledky

A. Inhibice kontrakcí ilea morčete vyvolaných angiotensinem I

Segmenty čerstvě vyřízlého a promytého terminálního ilea o rozměrech 1,5 cm se suspendují ve 25 ml tkáňové lázni obsahující Tyrodův roztok o teplotě 31 °C a suspenze se probublává směsí 95 % kyslíku a 5 % oxidu uhličitého. Pomocí isometrického převaděče Ealing a zařízení Lectromed polygraph se sleduje a zaznamenává zbytkové napětí po ekvilibraci při počátečním zatížení 1,0 g a odpověď na angiotensin I a angiotensin II (oba při koncentraci 100 ng/ml). V tomto systému se zkouší několik sloučenin podle vynálezu. Sloučeniny se přidají do lázně 2 minuty před příslušným agonistou.

Inhibiční účinek zkoušených sloučenin na kontrakce vyvolané angiotensinem I se stanovuje při finální koncentraci lázně 10 mg/ml. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce I. Všechny procentické hodnoty inhibice uvedené v tabulce I představují průměrnou hodnotu z výsledků dosažených se segmenty ilea pěti morčat. Při koncové koncentraci lázně 1 mikrogram na mililitr nevykazuje žádná ze zkoušených sloučenin znatelný modifikační účinek na kontrakce vyvolané angotensinem II.

Tabulka I

sloučenina číslo	inhibice (%)
21	30,7
24	20,6
27	18,1
29	16,2
35	16,0
kaptopril	28,9

B. Antihypertensní účinnost u spontánně hypertensních krys (SHR)

V tomto uznávaném modelu hypertense se používá samců spontánně hypertensní krysy o hmotnosti 315 až 376 g se systolickým krevním tlakem (SBP) >22,13 kPa. Systolický krevní tlak se zaznamenává u zvířat při vědomí za použití metody s ocasní manžetou (FS-40 krevní tlak/monitor pulsů). Před každým měřením se krysy umístí do válce s omezeným prostorem. Zaznamenají se hodnoty základního tlaku a potom se podají zkoušené sloučeniny (včetně kaptoprilu, jako referenčního vzorku) orálně v dávce 30 mg/kg (zkušební skupina obsahuje 5 zvířat, n=5). Tlak se zaznamenává znovu po uplynutí 1, 2, 3, 4 a 24 hodin od podání zkoušené sloučeniny. Pro srovnávací účely slouží kontrolní skupina zvířat (n=18).

Za shora uvedených podmínek vykazují sloučeniny číslo 8, 27 a 21 podstatnou antihypertensní účinnost. Jednu hodinu po podání

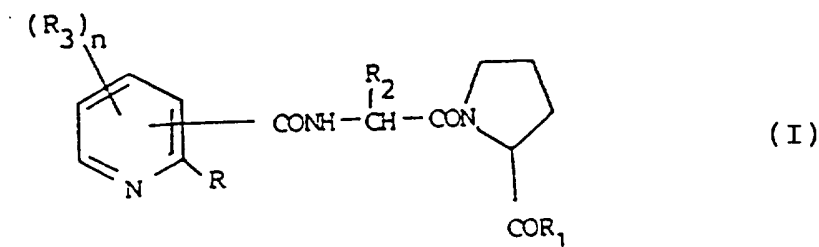
zkoušené sloučeniny je průměrné snížení systolického krevního tlaku podstatně odlišné od snížení dosaženého u kontrolní skupiny. V případě zvířat, kterým byla podána sloučenina číslo 27, činí toto snížení $3,79 \pm 42$ kPa, u zvířat, kterým byla podána sloučenina číslo 8, činí toto snížení $4,35 \pm 1$ kPa a u zvířat, kterým byl podán kaptopril, činí toto snížení $2,30 \pm 1,1$ kPa. Hodnoty snížení systolického tlaku byly také podstatně odlišné od kontrolní skupiny po uplynutí 2, 3, 4 a 24 hodin od podání zkoušených sloučenin. Kaptopril byl po 24 hodinách neúčinný (Duncan-Kramerův test, $p < 0,05$). Střední hodnota základního systolického krevního tlaku ($22,34$ až $22,58$ kPa) se příliš nelišila od kontrolní skupiny ($22,42 \pm 0,081$ kPa).

V případě dávkování 30 mg/kg, vykazovala sloučenina číslo 21 podstatné snížení pouze po 2 hodinách; v případě dávkování 45 mg/kg bylo snížení podstatné i po 2, 3, 4 a 24 hodinách.

Antihypertenzní účinnost byla pozorována v tomto modelu i u sloučenin číslo 8 a 27 zkoušených v orální dávce $7,5$ a 15 mg/kg.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I



včetně jejich tautomerních forem, kde

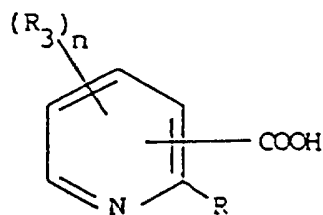
n představuje číslo 0 nebo celé číslo s hodnotou 1 až 3;

R představuje skupinu vzorce OH , SH , COOH , NH_2 , halogen, OR_4 , SR_4 , COOR_4 , NHR_4 nebo $\text{N(R}_4)_2$, přičemž symbol R_4 je zvolen ze souboru zahrnujícího alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, fenylyskupinu, naftylyskupinu a acylyskupinu s 1 až 10 atomy uhlíku;

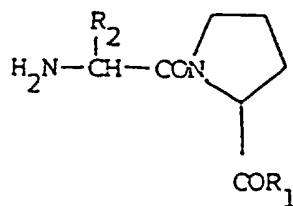
R_1 představuje skupinu OH , alkoxy skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, která je popřípadě substituována hydroxyskupinou, alkoxy skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku nebo acyloxy skupinou s 1 až 10 atomy uhlíku, nebo fenylalkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části;

R_2 představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo aminoalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku;

- R_3 představuje halogen, nitroskupinu, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo fenyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části;
- a jejich farmaceuticky vhodné soli,
s vyloučením sloučenin obecného vzorce I, kde R představuje skupinu vzorce COOH nebo COOR_4 , pokud n znamená číslo 0 a karbonyldipeptidová skupina je v poloze 3 pyridinového kruhu.
2. N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I podle nároku 1, kde n představuje číslo 0 nebo 1, zejména číslo 0.
 3. N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I podle nároku 1 nebo 2, kde R představuje skupinu vzorce OH , SH , COOH , Cl , OR_4 , SR_4 , NHR_4 nebo COOR_4 , přičemž R_4 je zbytek zvolený ze souboru zahrnujícího alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, fenylskupinu a acylskupinu s 1 až 10 atomy uhlíku.
 4. N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, kde R představuje skupinu vzorce OR_6 , SR_6 , Cl , NHR_7 , nebo COOR_8 , přičemž R_6 představuje vodík alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo fenylskupinu, zejména vodík, methyl, ethyl nebo fenylyl; R_7 představuje acylskupinu s 1 až 10 atomy uhlíku nebo fenylskupinu, zejména acetyl nebo fenylyl; a R_8 představuje vodík nebo alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, zejména vodík, methylskupinu nebo ethylskupinu.
 5. N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, kde R_1 představuje hydroxyskupinu nebo alkoxyskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, zejména hydroxyskupinu, methoxyskupinu nebo ethoxyskupinu.
 6. N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, kde R_2 představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, zejména methylskupinu.
 7. N-(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptidy obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, kde R_3 představuje nitroskupinu a/nebo halogen, zejména nitroskupinu a/nebo brom.
 8. Způsob výroby N-(alfa-substituovaný pyridinyl)-karbonyldipeptidů obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se karboxylová kyselina obecného vzorce IIa nechá reagovat s dipeptidem obecného vzorce III



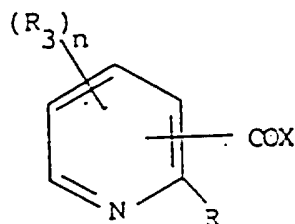
(IIa)



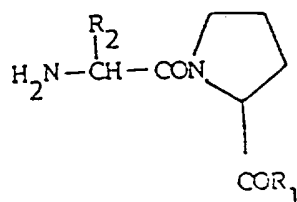
(III)

kde n , R , R_1 , R_2 a R_3 mají význam uvedený v nároku 1, přičemž R nepředstavuje karboxyskupinu a R_1 nepředstavuje hydroxyskupinu, za přítomnosti kondenzačního činidla, jako je N,N' -di-cyklohexylkarbodiimid, potom se popřípadě provede hydrolýza, převedení na sůl a/nebo jiný reakční stupeň, kterého je zapotřebí pro převedení získané sloučeniny obecného vzorce I na jinou sloučeninu obecného vzorce I podle nároku 1.

9. Způsob výroby N -(alfa-substituovaný pyridinyl)-karbonyldipeptidů obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se acylhalogenid obecného vzorce IIb nechá reagovat s dipeptidem obecného vzorce III, který má popřípadě povahu soli



(IIb)



(III)

kde X představuje halogen, zejména chlor a n , R , R_1 , R_2 a R_3 mají význam uvedený v nároku 1, za přítomnosti organické báze, pokud R_1 nepředstavuje hydroxyskupinu, nebo anorganické báze, pokud R_1 představuje hydroxyskupinu, načež se popřípadě provede hydrolýza, převedení na sůl a/nebo jiný reakční stupeň, kterého je zapotřebí pro převedení získané sloučeniny obecného vzorce I na jinou sloučeninu podle nároku 1.

10. Farmaceutický přípravek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje farmaceuticky vhodný nosič a alespoň jeden N -(alfa-substituovaný pyridinyl)karbonyldipeptid podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7.

Konec dokumentu
