

①9



LATVIJAS REPUBLIKAS  
PATENTU VALDE

①1 LV 10387 B

⑤1 Int.Cl. <sup>6</sup> A61K31/22  
C07C219/06

Latvijas patents uz izgudrojumu  
1995.g. 30.marta Latvijas Republikas likums

①2

Īsziņas

②1 Pieteikuma numurs: P-93-303  
 ②2 Pieteikuma datums: 07.05.1993\*  
 ④1 Pieteikuma publikācijas datums: 20.02.1995  
 ④5 Patenta publikācijas datums: 20.02.1996  
 ③0 Prioritāte:  
 P4015255.3      12.05.1990      DE

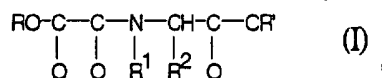
⑦3 Īpašnieks(i):  
 HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT;  
 D-6230 Frankfurt-am-Main 80, DE

⑦2 Izgudrotājs(i):  
 Ekkehard BAADER (DE),  
 Harald BURGHARD (DE),  
 Volkmar GÜNZLER-PUKALL (DE)

⑦4 Pilnvarotais vai pārstāvis:  
 Ābrams FOGELS,  
 Patentu birojs "ALFA-PATENTS",  
 Mārstaļu iela 2/4, Rīga LV-1050, LV

⑤4 Virsraksts: **Paņēmiens ārstniecības līdzekļu iegūšanai un savienojumu pielietojums ārstniecības nolūkos**

⑤7 Kopsavilkums: Izgudrojums attiecas uz oksalilaminoskābju atvasinājumiem ar formulu (I):



kur

R un R' ir vienādi vai dažādi un nozīmē C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkilgrupu vai ūdeņradi,

R<sup>1</sup> ir ūdeņradis vai C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkilgrupa,

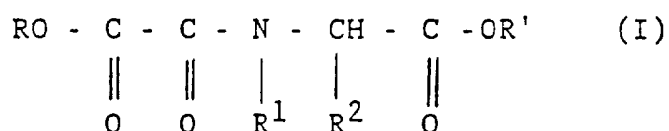
R<sup>2</sup> ir ūdeņradis, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkil-, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>alkoksi-, karboksil-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkoksikarbonil-, aril-, HS-, NH<sub>2</sub>-grupa vai halogēns, pie kam alkilgrupas ir neaizvietotas vai aizvietotas ar aril-, HO-, HS- vai NH<sub>2</sub>-grupu, vai arī

R<sup>1</sup> un R<sup>2</sup> kopā veido C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>alkilēnvirkni, kā arī savienojumi, kuros pārsvarā ir to tīrās D- vai L-formas, kā arī to fizioloģiski saderīgi sāļi. Savienojumi ieteicami kā rolin- un lizīnhidroksilāzes efektīvi inhibitori.

\* pieteikums pieņemts ievērojot LR Ministru Padomes 1992.gada 28.februāra lēmumu Nr.72(PSRS pat.piet.Nr. 4895308/04, iesniegšanas datums 10.05.1991)

## Izgudrojuma formula

1. *Paņēmiens* tādu ārstniecības līdzekļu iegūšanai, kas iedarbojas uz kolagēna un tam līdzīgu vielu metabolismu, t.i. uz Clg-biosintēzi, *atšķiras* ar to, ka ārstniecības līdzeklim pievieno savienojumu ar formulu (I):



kurā:

R un R' ir vienādi vai dažādi un nozīmē C<sub>1-6</sub>alkilgrupu vai ūdeņraža atomu;

R<sup>1</sup> ir ūdeņraža atoms vai C<sub>1-4</sub>alkilgrupa;

R<sup>2</sup> ir ūdeņraža atoms, C<sub>1-6</sub>alkilgrupa, C<sub>1-3</sub>alkoksigrupa, karboksilgrupa, C<sub>1-6</sub>alkoksikarbonilgrupa, arilgrupa, tiolgrupa, aminogrupa vai halogēna atoms, pie kam alkilgrupas ir neobligāti aizvietotas ar arilgrupu, hidroksilgrupu, tiolgrupu vai aminogrupu, vai arī

R<sup>1</sup> un R<sup>2</sup> abi kopā veido C<sub>2-4</sub>alkilēngrupu,

kā arī minēto savienojumu pamatā tīrās D- vai L-formas, kā arī visu minēto savienojumu fizioloģiski pieņemamās sāļis.

2. Paņēmiens pēc 1. punkta, kas atšķiras ar to, ka:

R un R' ir vienādi vai dažādi un apzīmē C<sub>1-3</sub>alkilgrupu, Na vai K;

R<sup>1</sup> ir ūdeņraža atoms, metilgrupa vai etilgrupa;

R<sup>2</sup> ir ūdeņraža atoms vai C<sub>1-4</sub>alkilgrupa, neobligāti aizvietota ar fenilgrupu vai tiolgrupu, vai arī

R<sup>1</sup> un R<sup>2</sup> abi kopā veido C<sub>2-3</sub> alkilēngrupu.

3. Paņēmiens pēc 1. vai 2. punkta, kas atšķiras ar to, ka:

R un R' ir vienādi un apzīmē metilgrupu, etilgrupu, Na vai K;

R<sup>1</sup> ir ūdeņraža atoms vai metilgrupa;

R<sup>2</sup> ir ūdeņraža atoms, C<sub>1-3</sub>alkilgrupa, benzilgrupa vai tiometilgrupa, vai arī

R<sup>1</sup> un R<sup>2</sup> abi kopā veido etilēngrupu.

4. Paņēmiens pēc jebkura no iepriekšējiem punktiem, kas atšķiras ar to, ka ārstniecības līdzeklis paredzēts fermentu prolīn- un lizīnhidroksilāzes inhibēšanai.

5. Paņēmiens pēc jebkura no 1.-3. punktiem, kas atšķiras ar to, ka ārstniecības līdzeklis paredzēts pielietošanai par fibrodepresantu vai imūnodepresantu.

6. Paņēmiens pēc jebkura no iepriekšējiem punktiem, kas atšķiras ar to, ka tas bez savienojuma ar formulu (I) satur vēl papildus farmaceitiski pieņemamu nesēju.

7. Savienojumu ar formulu (I) pēc jebkura no 1.-3. punktiem pielietojums tādu ārstniecības līdzekļu ražošanai, kam piemīt fibrodepresīva un/vai imūnodepresīva iedarbība.

8. Savienojumu ar formulu (I) pēc jebkura no 1.-3. punktiem pielietojums tādu ārstniecības līdzekļu ražošanai, kas iedarbojas uz kolagēna un tam līdzīgu vielu metabolismu, t.i. uz C1g-biosintēzi.

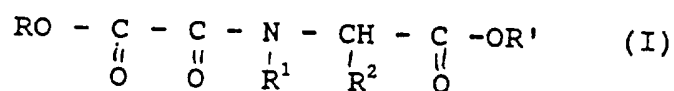
9. Savienojumu ar formulu (I) pēc jebkura no 1.-3. punktiem pielietojums tādu ārstniecības līdzekļu ražošanai, kas paredzēti kolagēna un tam līdzīgu vielu metabolisma traucējumu, t.i. kolagēna biosintēzes traucējumu, ārstēšanai.

## Beschreibung

Oxalyl-aminosäurederivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel zur Inhibierung der Prolin-Hydroxylase

Oxalyl-aminosäurederivate sind bekannt und beispielsweise beschrieben in FR-A 20 10 601, JP 43/10614 oder Biochemistry, 27 (8), 2934-2943 (1988). Eine Verwendung dieser Verbindungen als Arzneimittel ist im Stand der Technik jedoch nicht beschrieben.

Es wurde nun gefunden, daß Oxalyl-aminosäurederivate der Formel I



worin

R und R' gleich oder verschieden sind und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl oder Wasserstoff bedeuten,  
 R<sup>1</sup> Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeutet,  
 R<sup>2</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, Carboxyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-carbonyl, Aryl, SH, NH<sub>2</sub> oder Halogen bedeutet, wobei die Alkylreste unsubstituiert oder mit Aryl, OH, SH oder NH<sub>2</sub> substituiert sind

oder

R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen eine C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylenkette darstellen sowie die Verbindungen in ihrer überwiegend reinen D- und L-Form sowie die physiologisch verträglichen Salze ausgezeichnete Inhibitoren der Prolin- und Lysin-Hydroxylase sind.

Die Erfindung betrifft somit die Verwendung der obengenannten Verbindungen als Arzneimittel, insbesondere als Arzneimittel zur Beeinflussung des Stoffwechsels von Kollagen und

kollagenähnlichen Stoffen bzw. der Biosynthese von Clq.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung solcher Verbindungen der Formel I, in denen

R und R' gleich oder verschieden sind und C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl, Na oder K bedeuten,

R<sup>1</sup> Wasserstoff, Methyl oder Ethyl bedeutet,

R<sup>2</sup> Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeutet, wobei der Alkylrest unsubstituiert oder mit Phenyl oder SH substituiert ist

oder

R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen eine C<sub>2</sub>- oder C<sub>3</sub>-Alkylenkette bilden.

Ganz besonders bevorzugt ist die Verwendung von Verbindungen der Formel I, in denen

R und R' gleich sind und Methyl, Ethyl, Na oder K bedeuten,

R<sup>1</sup> Wasserstoff oder Methyl bedeutet,

R<sup>2</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl, Benzyl oder Thiomethyl bedeutet,

oder

R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen eine Ethylenkette bilden.

Alkylketten mit 3 und mehr Kohlenstoffatomen können sowohl geradkettig als auch verzweigt sein. Unter Aryl werden aromatische Kohlenwasserstoffe verstanden, insbesondere Phenyl und Naphthyl. Unter Halogen werden Fluor, Chlor, Brom und Jod verstanden, insbesondere Chlor und Brom.

Die Herstellung von Verbindungen der Formel I ist bekannt und beispielsweise beschrieben in FR-A 20 10 601. Sie gelingt am einfachsten dadurch, daß man 1-3 Äquivalente Aminosäureester-Hydrohalogenid, bevorzugt Hydrochlorid und 1-5 Äquivalente einer Base wie z. B. Carbonat oder Hydrogencarbonat wie Natrium- oder Kaliumcarbonat oder Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat oder tertiäre Amine, wie Triäthylamin, Tributylamin, Äthyl-diisopropylamin oder heterocyclische Amine wie N-Alkylmorpholin, Pyridin, Chinolin oder Dialkylaniline zusammengibt.

Gegebenenfalls können auch mehrere Basen gleichzeitig eingesetzt werden. Die Reaktionstemperaturen liegen bei  $-30^{\circ}\text{C}$  bis  $150^{\circ}\text{C}$ , bevorzugt bei  $20^{\circ}\text{C}$  bis  $100^{\circ}\text{C}$ . Gegebenenfalls kann auch in einem Lösungsmittel gearbeitet werden, wie Diäthyläther oder Dimethoxyäthan oder Tetrahydrofuran, chlorierten Kohlenwasserstoffen wie Methylenchlorid, Chloroform, Tri- oder Tetrachloräthylen, Benzol, Toluol und auch polaren Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, Aceton, Alkoholen wie Methanol oder Ethanol oder Dimethylsulfoxid. Anschließend werden bei Temperaturen zwischen  $-78^{\circ}\text{C}$  und  $100^{\circ}\text{C}$ , bevorzugt zwischen  $-20^{\circ}\text{C}$  und  $+20^{\circ}\text{C}$  langsam 1-3 Äquivalente Oxalsäureesterchlorid zugegeben. Gegebenenfalls kann auch hier mit einem Lösungsmittel wie oben angegeben gearbeitet werden. Die Beendigung der Reaktion läßt sich beispielsweise mittels Dünnschichtchromatographie bestimmen.

Gegebenenfalls kann die Aufarbeitung der Produkte beispielsweise durch Extraktion oder durch Chromatographie z. B. über Kieselgel erfolgen. Das isolierte Produkt kann umkristallisiert werden.

Verbindungen der Formel I mit R und/oder R' = Alkali wie z. B. Na oder K können z. B. aus den entsprechenden Verbindungen der Formel I mit R und/oder R' =  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -Alkoxy in alkalischem Medium zu den entsprechenden Salzen verseift werden, z. B. mit NaOH oder KOH in einem niedermolekularen Alkohol wie Methanol oder Äthanol oder in Äthern wie Dimethoxyäthan oder Tetrahydrofuran, gegebenenfalls in Gegenwart von Wasser. In den erhaltenen Salzen läßt sich das Alkalikation nach Ansäuern in Ionenaustauschern in üblicher Weise gegen beliebige Kationen austauschen. Dazu läßt man z. B. die Säuren durch eine mit einem Kationenaustauscher, wie z. B. auf Basis Polystyrol/Divinylbenzol (<sup>(R)</sup>Amberlite CG-150 oder (<sup>(R)</sup>Dowex-CCR-2) gefüllte Säule laufen. Der Kationenaustauscher ist mit dem gewünschten Kation beladen, z. B. mit Ammoniumionen, die sich von einem primären, sekundären oder tertiären Amin ableiten. Das gewünschte Salz erhält man durch Eindampfen des Eluats.

Ammoniumsalze der Säuren, die sich von einem primären, sekundären oder tertiären Amin ableiten, kann man auch herstellen, indem man die freien Säuren in einer alkoholischen Lösung mit einer äquimolaren Menge des entsprechendenamins versetzt und das Lösungsmittel eindampft.

Die Herstellung der überwiegend enantiomerenreinen D- oder L-Verbindungen aus den Racematen erfolgt ebenfalls nach literaturbekannten Verfahren, beispielsweise durch fraktionierte Kristallisation oder durch enzymatische Aufarbeitung. Eine andere Möglichkeit besteht in der Direktsynthese der enantiomerenreinen Verbindung aus entsprechenden D- oder L-Vorstufen (Ausgangsverbindungen).

Die erfindungsgemäßen Substanzen sind als reversible Hemmstoffe der Prolylhydroxylase wirksam. Infolgedessen bewirken sie eine selektive Hemmung der kollagenspezifischen Hydroxylierungsreaktion, in deren Verlauf proteingebundenes Prolin durch das Enzym Prolylhydroxylase hydroxyliert wird. Bei Unterbindung dieser Reaktion mittels eines Inhibitors entsteht ein nichtfunktionsfähiges, unterhydroxyliertes Kollagenmolekül, das von der Zelle nur in geringer Menge in den extrazellulären Raum abgegeben werden kann. Das unterhydroxylierte Kollagen kann außerdem nicht in die Kollagenmatrix eingebaut werden und wird sehr leicht proteolytisch abgebaut. Als Folge dieser Effekte verringert sich insgesamt die Menge des extrazellulär abgelagerten Kollagens. Inhibitoren der Prolylhydroxylase sind deshalb geeignete Werkzeuge in der Therapie von Erkrankungen, in denen die Ablagerung von Kollagenen maßgeblich zum Krankheitsbild beiträgt. Hierzu gehören u. a. Fibrosen der Lunge, Leber und Haut (Skleroderma) sowie die Atherosklerose.

Außerdem ist bekannt, daß die Inhibierung der Prolylhydroxylase durch bekannte Inhibitoren wie  $\alpha,\alpha$ -Dipyridyl zu einer Hemmung der Clq-Biosynthese von Makrophagen führt (W. Müller et al., FEBS Lett. 90, 218 f.

(1978)). Dadurch kommt es zu einem Ausfall des klassischen Weges der Komplementaktivierung; Inhibitoren der Prolylhydroxylase wirken daher auch als Immunsuppressiva, z. B. bei Immunkomplexkrankheiten.

Die erfindungsgemäßen Substanzen können daher als Fibrosuppressiva, Immunsuppressiva und Antiatherosklerotika eingesetzt werden.

Die antifibrotische Wirkung kann im Modell der Tetrachlorkohlenstoff-induzierten Leberfibrose bestimmt werden. Dazu werden Ratten mit  $\text{CCl}_4$  (1 ml/kg) - gelöst in Olivenöl - zweimal wöchentlich behandelt. Die Prüfsubstanz wird täglich, gegebenenfalls sogar zweimal täglich per os oder intraperitoneal - gelöst in einem geeigneten verträglichen Lösungsmittel - verabreicht. Das Ausmaß der Leberfibrose wird histologisch bestimmt und der Anteil Kollagen in der Leber per Hydroxyprolinbestimmung - wie bei Kivirikko et al. (Anal. Biochem. 19, 249 f. (1967)) beschrieben - analysiert. Die Aktivität der Fibrogenese kann durch radioimmunologische Bestimmung von Kollagenfragmenten und Prokollagenpeptiden im Serum bestimmt werden. Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind in diesem Modell in Konzentration von 1 - 100 mg/kg wirksam. Ein anderes Modell zur Evaluierung der antibiotischen Wirkung ist das der Bleomycin-induzierten Lungenfibrose wie bei Kelley et al. (J. Lab. Clin. Med. 96, 954, (1980)) beschrieben. Für die Evaluierung der Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Granulationsgewebe kann das Modell des Wattebauschgranuloms, wie bei Meier et al., Experimentia 6, 469 (1950) beschrieben, herangezogen werden. Im folgenden ist die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert.

#### BEISPIELE

Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen aus den Beispielen 1 - 6

Ein Äquivalent Aminosäureester-Hydrochlorid, zwei Äquivalente Triethylamin und 2 Äquivalente N,N-Dimethylaminopyridin werden bei Raumtemperatur unter Stickstoff-Atmosphäre in Methylenchlorid vorgelegt. Dann werden bei 0°C - 10°C langsam ein Äquivalent Oxalsäureesterchlorid in Methylenchlorid gelöst zugetropft. Es wird 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt und extrahiert. Die organische Phase wird abgetrennt, mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wird chromatographiert.

#### Beispiel 1

(N-Oxalyl)-L-alanindimethylester

$R = R' = \text{CH}_3$ ;  $R^1 = \text{H}$ ;  $R^2 = \text{CH}_3$

5 g L-Alaninmethylester-Hydrochlorid und 3,3 ml Oxalsäuremethylesterchlorid ergeben 6 g Beispiel 1 als Öl (Chrom.: EE/CH<sub>3</sub>OH 5/1)

#### Beispiel 2

(N-Oxalyl)-L-phenylalanindimethylester

$R = R' = \text{CH}_3$ ;  $R^1 = \text{H}$ ;  $R^2 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$

5 g L-Phenylalaninmethylester-Hydrochlorid und 2,2 ml Oxalsäuremethylesterchlorid ergeben 6,5 g Beispiel 2 als Öl (Chrom.: EE/CH<sub>3</sub>OH 5/1)

#### Beispiel 3

(N-Oxalyl)-L-glycindimethylester

$R = R' = \text{CH}_3$ ;  $R^1 = \text{H}$ ;  $R^2 = \text{H}$

15 g L-Glycinmethylester-Hydrochlorid und 11 ml Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 23 g Beispiel 3; Fp. 49°C; (Chrom.: EE)

#### Beispiel 4

(N-Oxalyl)-L-prolindimethylester

$R = R' = \text{CH}_3$ ;  $R^1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2 = R^2$

2 g L-Prolinmethylester-Hydrochlorid und 2,9 g Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 1,5 g als Öl (Chrom.: EE).

**Beispiel 5**

(N-Oxalyl)-L-valindimethylester

$R = R' = \text{CH}_3$ ;  $R^1 = \text{H}$ ;  $R^2 = -\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

2 g L-Valinmethylester-Hydrochlorid und 2,8 g Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 2 g als Öl (Chrom.: CH/EE 1/1).

**Beispiel 6**

(N-Oxalyl)-L-cysteindimethylester

$R = R' = \text{CH}_3$ ;  $R^1 = \text{H}$ ;  $R^2 = \text{CH}_2\text{SH}$

2 g L-Cysteinmethylester-Hydrochlorid und 3,9 g Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 1,5 g als Öl (Chrom.: CH/EE 1/1).

**Beispiel 7**

(N-Oxalyl)-sarcosindiethylester

$R = R' = \text{C}_2\text{H}_5$ ;  $R^1 = \text{CH}_3$ ;  $R^2 = \text{H}$

2 g Sarcosin-ethylester-hydrochlorid in 50 ml Ethanol vorlegen und bei Raumtemperatur eine Lösung aus 3,5 ml (2 Äquivalenten) Oxalsäurediethylester und 1,8 ml Triethylamin in 25 ml Ethanol zutropfen. Für 5 Stunden bei 50°C rühren, dann für 2 Stunden zum Rückfluß erhitzen. Die Lösung wird abgekühlt und zur Trockne eingedampft. Den Rückstand mit Methylenchlorid aufnehmen, einmal mit Wasser waschen, die organische Phase über Magnesiumsulfat trocknen und eindampfen.

Das Rohprodukt wird chromatographiert (EE/CH 1/1)

Ausbeute: 0,35 g

**Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen aus Beispiel 8 - 14**

Ein Äquivalent der Verbindung aus den Beispielen 1 - 7 wird bei Raumtemperatur mit 2 Äquivalenten 0,1 N alkoholischer Alkalilauge gelöst. Es wird 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird zweimal mit Toluol abgeraucht, mehrmals mit Pentan gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

**Beispiel 8**

(N-Oxalyl)-L-alanindikaliumsalz

 $R = R' = K; R^1 = H; R^2 = CH_3$ 

300 mg der Verbindung aus Beispiel 1 werden mit 32,5 ml 0,1 N ethanolischer Kalilauge umgesetzt.

Ausbeute: 370 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C

**Beispiel 9**

(N-Oxalyl)-L-phenylalanindinatriumsalz

 $R = R^2 = Na; R^1 = H; R^2 = CH_2C_6H_5$ 

420 mg der Verbindung aus Beispiel 2 werden mit 32,5 ml 0,1 N methanolischer Natronlauge umgesetzt.

Ausbeute: 440 mg weiße Kristalle, Fp. > 300°C

**Beispiel 10**

(N-Oxalyl)-L-glycindikaliumsalz

 $R = R^2 = K; R^1 = H; R^2 = H$ 

5,5 g der Verbindung aus Beispiel 3 werden mit 314 ml 0,1 N methanolischer Kalilauge umgesetzt.

Ausbeute: 5,4 g weiße Kristalle, Fp. > 300°C

**Beispiel 11**

(N-Oxalyl)-L-prolindinatriumsalz

 $R = R' = Na; R^1 = CH_2-CH_2 = R^2$ 

300 mg der Verbindung aus Beispiel 4 werden mit 1,5 ml 0,1 N ethanolischer Natronlauge umgesetzt.

Ausbeute: 290 mg weiße Kristalle, Fp. > 300°C

**Beispiel 12**

(N-Oxalyl)-L-valindinatriumsalz

 $R = R' = Na; R^1 = H; R^2 = CH(CH_3)_2$ 

300 mg der Verbindung aus Beispiel 5 werden mit 14 ml 0,1 N ethanolischer Natronlauge umgesetzt.

Ausbeute: 235 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C

**Beispiel 13**

(N-Oxalyl)-L-cysteindinatriumsalz

 $R = R^1 = Na; R^1 = H; R^2 = CH_2SH$ 

300 mg der Verbindung aus Beispiel 6 werden mit 13,7 ml 0,1 N

methanolischer Natronlauge umgesetzt

Ausbeute: 300 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C

#### Beispiel 14

(N-Oxalyl)-sarcosindikaliumsalz

R = R' = K; R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = H

120 mg der Verbindung aus Beispiel 7 werden mit 11,4 ml 0,1 N ethanolischer Kalilauge umgesetzt.

Ausbeute: 130 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C

Nachfolgend sind die Verbindungen aus den Beispielen 1 - 14 tabellarisch aufgeführt (Tabelle 1)

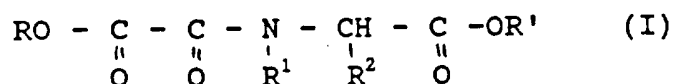


TABELLE 1

Beispiel	R	R'	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Fp./Öl
1	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	Öl
2	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Öl
3	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	49°C
4	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> -----CH <sub>2</sub>		Öl
5	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Öl
6	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> SH	Öl
7	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	H	Öl
8	K	K	H	CH <sub>3</sub>	> 300°C
9	Na	Na	H	CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	> 300°C
10	K	K	H	H	> 300°C
11	Na	Na	CH <sub>2</sub> -----CH <sub>2</sub>		> 300°C
12	Na	Na	H	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	> 300°C
13	Na	Na	H	CH <sub>2</sub> SH	> 300°C
14	K	K	CH <sub>3</sub>	H	> 300°C

Die Hemmwirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde in einem Enzymtest analog der Methode von B. Peterkofsky und R. DiBlasio, Anal. Biochem. 66, 279-286 (1975) bestimmt. Dabei wird unterhydroxyliertes Kollagen mit Prolylhydroxylase in Gegenwart von Eisen(II)ionen, α-Ketoglutarat und Ascorbat enzymatisch hydroxyliert und diejenige Konzentration der zugesetzten erfindungsgemäßen Verbindung bestimmt, die zu

einer 80%igen Hemmung der Enzymaktivität führt (der Wert wird als  $K_i$  angegeben).

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse mit den Verbindungen aus den Beispielen 8 und 10 aufgeführt.

**Tabelle 2 (Salze):**

Verbindung	$K_i$ [mM]
Beispiel 8	0,04
Beispiel 10	0,01

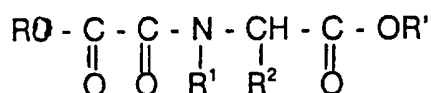
Die Hemmwirkung kann auch in der Zell- oder Gewebekultur bestimmt werden. Dazu können Fibroblasten oder andere Kollagen produzierende Zellen bzw. Calvarien oder andere Kollagen produzierende Organe eingesetzt werden. In Tabelle 3 ist die Hemmwirkung von erfindungsgemäßen Substanzen in der Calvarienkultur zusammengestellt. Angegeben ist die Konzentration, die zu einer 50%igen Absenkung des Hydroxyprolin/Prolin-Quotienten bei metabolischer Markierung mit  $^{14}\text{C}$ -Prolin führt ( $\text{IC}_{50}$ ).

**Tabelle 3 (Ester):**

Verbindung	$\text{IC}_{50}$ [mM]
Beispiel 1	0,35
Beispiel 3	0,002

Patentansprüche PT, SU, HU, MA, MX, UY, CN:

1. Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Beeinflussung des  
 Stoffwechsels von Kollagen und kollagenähnlichen Stoffen bzw. der  
 Biosynthese von Clq, dadurch gekennzeichnet, daß man dem Arzneimittel  
 eine Verbindung der Formel I



worin

R und R' gleich oder verschieden sind und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl oder Wasserstoff  
 bedeuten,

R<sup>1</sup> Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeutet,

R<sup>2</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, Carboxyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-  
 Alkoxy-carbonyl, Aryl, SH, NH<sub>2</sub> oder Halogen bedeutet, wobei  
 die Alkylreste unsubstituierte oder mit Aryl, OH, SH oder NH<sub>2</sub>  
 substituiert sind

oder

R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen eine C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylenkette darstellen  
 sowie die Verbindungen in ihrer überwiegend reinen D- und L-Form sowie  
 die physiologisch verträglichen Salze hinzugibt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R und R' gleich  
 oder verschieden sind und C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl, Na oder K bedeuten,

R<sup>1</sup> Wasserstoff, Methyl oder Ethyl bedeutet,

R<sup>2</sup> Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeutet, wobei der Alkylrest  
 unsubstituiert oder mit Phenyl oder SH substituiert ist

oder

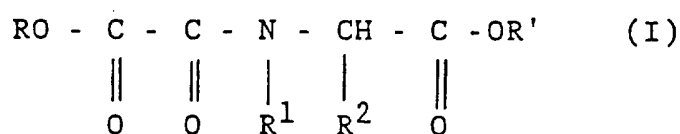
R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen eine C<sub>2</sub>- oder C<sub>3</sub>-Alkylenkette bilden.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß R und R' gleich sind und Methyl, Ethyl, Na oder K bedeuten,  
R<sup>1</sup> Wasserstoff oder Methyl bedeutet,  
5 R<sup>2</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl, Benzyl oder Thiomethyl bedeutet,  
oder  
R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen eine Ethylenkette bilden.
- 10 4. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Inhibierung der Enzyme Prolin- oder Lysinhydroxylase.
5. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Anwendung als Fibrosuppressiva und Immunsuppressiva.
- 15 6. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, enthaltend eine Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5 mit verträglichen pharmazeutischen Trägern.
- 20 7. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung von fibrosuppressiv und /oder immunsuppressiv wirkenden Arzneimitteln.
- 25 8. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Beeinflussung des Stoffwechsels von Kollagen und kollagenähnlichen Stoffen bzw. zur Biosynthese von Clg.
9. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Behandlung von Störungen des Stoffwechsels von Kollagen und kollagenähnlichen Stoffen bzw. zur Biosynthese von Clg.

## Zusammenfassung

Titel: Oxalylaminosäurederivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel zur Inhibierung der Prolyl-Hydroxylase

Die Erfindung betrifft Oxalyl-aminosäurederivate der Formel I



worin

R und R' gleich oder verschieden sind und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl oder Wasserstoff bedeuten,

R<sup>1</sup> Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeutet,

R<sup>2</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, Carboxyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl, Aryl, SH, NH<sub>2</sub> oder Halogen bedeutet, wobei die Alkylreste unsubstituiert oder mit Aryl, OH, SH oder NH<sub>2</sub> substituiert sind

oder

R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen eine C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylenkette darstellen sowie die Verbindungen in ihrer überwiegend reinen D- und L-Form sowie die physiologisch verträglichen Salze.

Die Verbindungen zeichnen sich als ausgezeichnete Inhibitoren der Prolyl- und Lysin-Hydroxylase aus.