

Deriváty oxalylaminokyselin pro použití jako léčiva a farmaceutický prostředek, tyto látky obsahující

Oblast techniky

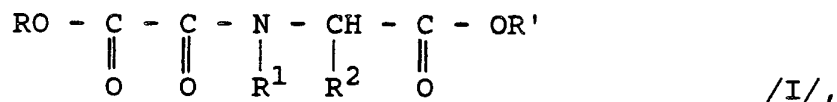
Vynález se týká derivátů oxalylaminokyselin pro použití jako léčiva a farmaceutických prostředků, tyto látky obsahujících.

Dosavadní stav techniky

Deriváty oxalylaminokyselin jsou známy a jsou například popsány ve FR-A 20 10 601, JP 43/10614 nebo v Biochemistry, 27/8/, 2934-2943 (1988). Použití těchto sloučenin jako léčiv však nebylo ještě popsáno.

Podstata vynálezu

Nyní bylo zjištěno, že deriváty oxalylaminokyselin obecného vzorce I



kde

R a R' jsou stejné nebo rozdílné a znamenají C₁-C₆-alkyl nebo vodík,

R¹ znamená vodík nebo C₁-C₄-alkyl

R² znamená vodík, C₁-C₆-alkyl, C₁-C₃-alkoxyskupinu, karboxyl, C₁-C₆-alkoxykarbonyl, aryl, SH, NH₂ nebo halogen, přičemž alkylové zbytky jsou nesubstituované nebo substituované arylem, OH, SH nebo NH₂

nebo

R¹ a R² představují dohromady C₂-C₄-alkylenový řetězec,

jakož i sloučeniny ve své převážně čisté nebo D a L formě, jakož i jejich fyziologicky snesitelné soli, jsou vynikající inhibitory prolinhydroxylázy a lysinhydroxylázy.

Předmětem předloženého vynálezu tedy je použití těchto známých uvedených sloučenin jako léčiv, zejména jako léčiv ovlivňujících látkovou výměnu kolagenu a látek podobných kolagenu.

Vynález se týká zejména použití takových sloučenin obecného vzorce I, ve kterých

R a R' jsou stejné nebo rozdílné a znamenají C₁-C₃-alkyl, Na nebo K,

R¹ znamená vodík, metylovou skupinu nebo etylovou skupinu,

R^2 znamená vodík nebo C_1 - C_4 -alkyl, přičemž alkylový zbytek je nesubstituovaný nebo substituovaný fenylem nebo SH

nebo

R^1 a R^2 dohromady tvoří C_2 - nebo C_3 - alkylenový řetězec.

Nejvýhodnější je použití sloučenin obecného vzorce I, ve kterých

R a R' jsou stejné a znamenají metylovou skupinu, etylovou skupinu, Na nebo K,

R^1 znamená vodík nebo metyl,

R^2 znamená vodík, C_1 - C_3 -alkyl, benzylovou skupinu nebo thio-metylovou skupinu,

nebo

R^1 a R^2 dohromady tvoří etylenový řetězec.

Alkylové řetězce s 1 a více atomy uhlíku mohou být buď lineární nebo i rozvětvené. Pod pojmem aryl se rozumí aromatické uhlovodíky, zejména fenyl a naftyl. Pod pojmem halogen se rozumí fluor, chlor, brom a jod, zejména pak chlor a brom.

Výroba sloučenin obecného vzorce I je známá a je popsána například ve FR-A 20 10 601. Tato se nejjednodušeji daří tak, že se sloučí 1 až 5 ekvivalentů báze, jako například karbonátu nebo hydrogenkarbonátu, jako například natriumkarbonátu nebo kaliumkarbonátu, nebo terciárního aminu, jako například triethylaminu, tributylaminu, etyldiizopropylaminu nebo heterocyklického aminu, jako například N-alkylmorfolinu, pyridinu, chinolinu nebo dialkylanilinu. Popřípadě se může současně použít i více bází. Reakční teploty se pohybují okolo -30 °C až 150 °C, s výhodou okolo 20 °C až 100 °C. Popřípadě se může pracovat i v rozpouštědle, jako například dietyléteru nebo dimoxyetanu nebo tetrahydrofuranu, chlorovaných uhlovodících, jako například metylenchloridu, chloroformu, trichloretylenu nebo tetrachloretylenu, benzenu, toluenu a rovněž i v polárních rozpouštědlech, jako dimetylformamidu, acetonu, alkoholech, jako například metanolu nebo etanolu, nebo dimetylsulfoxidu. Konečně se při teplotách mezi -78 °C až 100 °C, s výhodou mezi -20 °C až $+20$ °C pomalu přidávají 1 až 3 ekvivalenty chloridu esteru kyseliny oxalové. Po případě se i zde může pracovat s rozpouštědlem, jako je to uvedeno výše. Ukončení reakce se dá stanovit například pomocí chromatografie na tenké vrstvě.

Zpracování produktu se může provádět například extrakcí, nebo chromatograficky například přes silikagel. Izolovaný produkt se může nechat překrystalovat.

Sloučeniny obecného vzorce I s R a/nebo R' = alkalický kov, jako například Na nebo K, se mohou z odpovídajících sloučenin obecného vzorce I s R a/nebo R' = C_1 - C_4 -alkoxyskupina převést

zmýdlením v alkalickém prostředí na odpovídající soli, například s hydroxidem sodným NaOH nebo hydroxidem draselným KOH v nízkomolekulárním alkoholu, jako například metanolu nebo etanolu, nebo v éterech, jako například dimetoxyetanu nebo tetrahydrofuranu, popřípadě v přítomnosti vody. V získaných solích se dá kation alkalického kovu nahradit po okyselení v iontoměničích obvyklým způsobem za libovolné kationty. Za tím účelem se nechají kyseliny protékat sloupcem, naplněným kationtoměničem, jako například kationtoměničem na bázi polystyren/divinylbenzenu /^RAmberlite CG-150 nebo ^RDowex-CCR -2/. Katex je uveden do cyklu s požadovanými kationty, například s ionty amonia, které se odvozují od primárního, sekundárního nebo terciárního aminu. Požadovaná sůl se získá odpařením eluátu.

Amoniové soli kyselin, které se odvozují od primárního, sekundárního nebo terciárního aminu, lze vyrobit i tak, že se volné kyseliny doplní v alkoholickém roztoku ekvimolárním množstvím odpovídajícího aminu, a rozpouštědlo se odpaří.

Výroba, pokud se týká enantiomerů čistých D- nebo L-sloučenin z racemátů, se provádí rovněž způsoby známými z literatury, například frakční krystalizací nebo enzymatickým zpracováním. Jinou možností je přímá syntéza enantiomerně čisté sloučeniny z odpovídajících D- nebo L- předstupňů (výchozí sloučeniny).

Sloučeniny obecného vzorce I jsou účinné jako reverzní inhibitory prolylhydroxylázy. Proto dosahují selektivní inhibici kolagenspecifické hydroxylační reakce, při jejímž průběhu se prolin, vázaný na protein, hydroxyluje enzymem prolylhydroxylázou. Při zamezení této reakce pomocí inhibitoru vzniká funkčně neschopná, nedostatečně hydroxylovaná molekula kolagenu, která se může buňkou předat jen v nedostatečném množství do extracelulárního prostoru. Nedostatečně hydroxylovaný kolagen se kromě toho nemůže vestavovat do kolagenní matrice a velmi snadno se proteolyticky odbourá. V důsledku tohoto efektu se sníží celkové množství extracelulárně uloženého kolagenu. Inhibitory prolylhydroxylázy jsou proto vhodnými nástroji v léčení onemocnění, při kterých ukládání kolagenů přispívá rozhodujícím způsobem k obrazu nemoci. K tomu patří mimo jiné fibrózy plic, jater a kůže /skleroderma/ jakož i ateroskleróza.

Kromě toho je známo, že inhibice prolylhydroxylázy pomocí známých inhibitorů jako α - α -dipyridylem vede k inhibici Clq-biosyntézy makrofagů /W. Müller et al., FEBS Lett. 90, 218 f. /1978/. Tím dochází k výpadku klasické cesty aktivace komplementu; inhibitor prolylhydroxylázy působí jako iminosupresiva, například při imunokomplexních onemocněních.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou proto používat jako fibrosupresiva, imunosupresiva a antiaterosklerotika.

Antifibrotický účinek se může stanovit na modelu fibrózy jater, indukované tetrachloruhlíkem. Za tím účelem se krysám podává dvakrát týdně CCl₄ /1 ml/kg/, rozpuštěný v olivovém oleji. Zkoušená látka se podává denně, popřípadě dokonce dvakrát denně per os nebo intraperitoneálně - rozpuštěná ve vhodném rozpouštědle. Míra fibrózy jater se určuje histologicky a analyzuje se

podíl kolagenu v játrech pomocí stanovení hydroxyprolinu - jak je to popsáno u Kivirikko et al. /Anal. Biochem. 19, 249 f /1967//. Aktivita fibrogenézy se může určovat radioimunologickým stanovením fragmentů kolagenu a peptidů prokolagenu v séru. Sloučeniny podle vynálezu jsou v tomto modelu účinné v koncentraci 1 až 100 mg/kg. Jiný model pro hodnocení antibiotického účinku je fibróza plic, indukovaná bleomycinem, jak je to popsáno u Kelley et al. /J. Lab. Clin. Med. 96,954 /1980//. Pro hodnocení účinku sloučenin podle vynálezu na granulační tkáň se může použít model granulomu na chomáčku vaty, jak je to popsáno u Meier et al., Experimentia 6,469 /1950/.

V dalším je vynález blíže vysvětlen pomocí příkladů.

Příklady provedení vynálezu

Všeobecný předpis pro výrobu sloučenin z příkladů 1 až 6.

Jeden ekvivalent hydrochloridu esteru aminokyseliny, dva ekvivalenty triethylaminu a 2 ekvivalenty N,N-dimethylaminopyridinu se předloží při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku do metylenchloridu. Potom se při teplotě 0 °C až 10 °C pomalu přikape jeden ekvivalent chloridu esteru kyseliny oxalové, rozpuštěného v metylenchloridu. Míchá se 12 hodin při teplotě místnosti, doplní se nasyceným roztokem natriumhydrogenkarbonátu a extrahuje. Organická fáze se oddělí, promyje roztokem natriumchloridu, usuší magnesiumsulfátem a odpaří. Surový produkt se chromatografuje.

Příklad 1

/N-oxalyl/-1-alanindimetyléster

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

5 g hydrochloridu L-alaninmetylésteru a 3,3 ml chloridu metylesteru kyseliny oxalové poskytne 6 g v příkladu 1 uváděné sloučeniny jako olej

/chrom.: EE/CH₃OH 5/1/

Příklad 2

/N-oxalyl/-L-fenylalándimetyléster

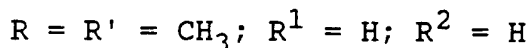
$R = R' = \text{CH}_3$; $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$

5 g hydrochloridu L-fenylalaninmetylésteru a 2,2 ml chloridu metylesteru kyseliny oxalové poskytnou 6,5 g titulní sloučeniny příkladu 2 jako olej

/Chrom.: EE/CH₃OH 5/1/

Příklad 3

/N-oxalyl/-L-glycindimetyléster

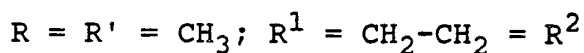


15 g hydrochloridu metylesteru L-glycinu a 11 ml chloridu metylesteru kyseliny oxalové poskytně 23 g titulní sloučeniny příkladu 3; t.t. 49 °C;

/chrom.: EE/

Příklad 4

/N-oxalyl/-L-prolindimetyléster

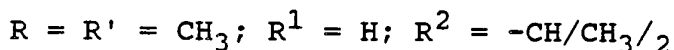


2 g hydrochloridu L-prolinmetylesteru a 2,9 g chloridu monometyloxalové kyseliny poskytně 1,5 g titulní sloučeniny z příkladu 4 jako olej

/chrom.: EE/.

Příklad 5

/N-oxalyl/-L-valindimetyléster

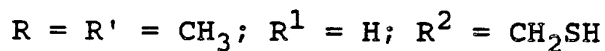


2 g hydrochloridu L-valinmetylesteru a 2,8 g chloridu monometylésteru kyseliny oxalové poskytnou 2 g sloučeniny příkladu 5 jako olej

/chrom.: CG/EE 1/1/.

Příklad 6

/N-oxalyl/-L-cysteindimetyléster

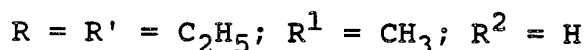


2 g hydrochloridu L-cysteinmetylesteru a 3,9 g chloridu monometylésteru kyseliny oxalové poskytnou 1,5 g sloučeniny jako olej

/chrom.: CH/EE 1/1/.

Příklad 7

/N-oxalyl/-sarkosindietylester



2 g hydrochloridu sarkosinetylesteru se předloží do 50 ml etanolu

a při teplotě místnosti se přikape roztok, sestávající ze 3,5 ml /2 ekvivalentů/ dietylésteru kyseliny oxalové a 1,8 ml triethylaminu ve 25 ml etanolu. Míchá se 5 hodin při 50 °C, potom se zahřívá 2 hodiny ke zpětnému toku. Roztok se ochladí a odpaří do sucha. Zbytek se vyjme metylenchloridem, jedenkrát promyje vodou, organická fáze se usuší nad síranem hořečnatým a odpaří.

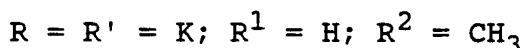
Surový produkt se chromatografuje /EE/CH 1/1/
Výtěžek: 0,35 g

Obecný předpis pro výrobu sloučenin z příkladů 8 až 14.

Jeden ekvivalent sloučeniny z příkladů 1 až 7 se rozpustí při teplotě místnosti na 2 ekvivalenty 0,1 N alkoholického roztoku louhu alkalického kovu. Míchá se 12 hodin při teplotě místnosti a odpaří se do sucha. Zbytek se odkouří dvakrát s toluenem, vícekrát se promyje pentanem a usuší ve vysokém vakuu.

Příklad 8

dvojdraselná sůl /N-oxalyl/-L-alaninu



300 mg sloučeniny z příkladu 1 se nechá zreagovat se 32,5 ml 0,1 N etanolického roztoku louhu draselného.

Výtěžek: 370 mg bílých krystalů; t.t.: > 300 °C

Příklad 9

dinatriová sůl /N-oxalyl/-L-fenylalaninu

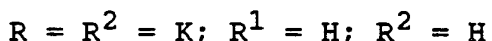


400 mg sloučeniny z příkladu 2 se nechá zreagovat se 32,5 ml 0,1 N metanolického roztoku louhu sodného.

Výtěžek: 440 mg bílých krystalů, t.t. > 300 °C

Příklad 10

dikaliová sůl /N-oxalyl/-L-glycinu

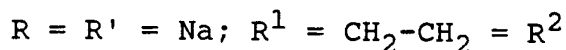


5,5 g sloučeniny z příkladu 3 se nechá zreagovat se 314 ml 0,1 N metanolického roztoku louhu draselného

Výtěžek: 5,4 g bílých krystalů, t.t. > 300 °C

Příklad 11

dinatriová sůl /N-oxalyl/-L-prolin

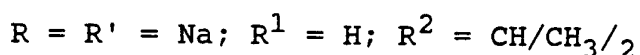


300 mg sloučeniny z příkladu 4 se nechá zreagovat s 1,5 ml 0,1 N etanolického roztoku louhu sodného.

Výtěžek: 290 mg bílých krystalů, t.t. > 300 °C

Příklad 12

dinatriová sůl (N-oxalyl/-L-valin

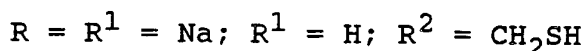


300 mg sloučeniny z příkladu 5 se nechá zreagovat se 14 ml 0,1 N etanolického roztoku louhu sodného.

Výtěžek: 235 bílých krystalů, t.t.: > 300 °C

Příklad 13

dinatriová sůl /N-oxalyl/-L-cystein

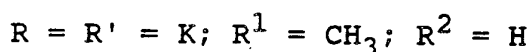


300 mg sloučeniny z příkladu 6 se nechá zreagovat se 13,7 ml 0,1 N metanolického roztoku louhu sodného.

Výtěžek: 300 mg bílých krystalů, t.t.: > 300 °C

Příklad 14

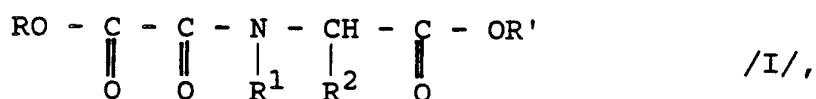
dikaliová sůl /N-oxalyl/-sarkosin



120 mg sloučeniny z příkladu 7 se nechá zreagovat s 11,4 ml 0,1 N etanolického roztoku louhu draselného.

Výtěžek: 230 mg bílých krystalů, t.t.: > 300 °C

Dále jsou sloučeniny z příkladů 1 až 14 uvedeny tabulárně /tabulka 1/



Tabulka 1

| příklad | R | R' | R ¹ | R ² | t.t./olej |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---|-----------|
| 1 | CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₃ | olej |
| 2 | CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₂ C ₆ H ₅ | olej |
| 3 | CH ₃ | CH ₃ | H | H | 49 °C |
| 4 | CH ₃ | CH ₃ | CH ₂ -----CH ₂ | | olej |
| 5 | CH ₃ | CH ₃ | H | CH/CH ₃ / ₂ | olej |
| 6 | CH ₃ | CH ₃ | H | CH ₂ SH | olej |
| 7 | C ₂ H ₅ | C ₂ H ₅ | CH ₃ | H | olej |
| 8 | K | K | H | CH ₃ | >300 °C |
| 9 | Na | Na | H | CH ₂ C ₆ H ₅ | >300 °C |
| 10 | K | K | H | H | >300 °C |
| 11 | Na | Na | CH ₂ -----CH ₂ | | >300 °C |
| 12 | Na | Na | H | CH/CH ₃ / ₂ | >300 °C |
| 13 | Na | Na | H | CH ₂ SH | >300 °C |
| 14 | K | K | CH ₃ | H | >300 °C |

Inhibiční účinek sloučenin obecného vzorce I byl určován enzymatickým testem, který je analogický metodě B. Peterkofsky a R. DiBlasio, Anal. Biochem. 66, 279-286 /1975/. Při tomto se nedostatečně hydroxylovaný kolagen s prolylhydroxylázou v přítomnosti iontů dvojmocného železa, - ketoglutarátu a askorbátu enzymaticky hydroxyluje a stanoví se ta koncentrace přidané sloučeniny obecného vzorce I, která vede k 80% inhibici aktivity enzymu /hodnota se udává jako K_i/.

V tabulce 2 jsou uvedeny výsledky, dosažené se sloučeninami z příkladů 8 a 10.

Tabulka 2 /soli/:

| sloučenina | K _i /mM/ |
|------------|---------------------|
| příklad 8 | 0,04 |
| příklad 10 | 0,01 |

Inhibiční účinek se může stanovit i v buněčné a tkáňové kultuře. Za tím účelem se mohou použít fibroplasty nebo jiné buňky, produkující kolagen, popřípadě kalvarie nebo jiné orgány, produkující kolagen. V tabulce 3 je shrnut inhibiční účinek látek

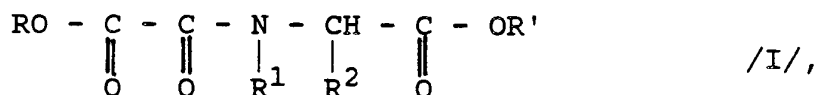
podle vynálezu v kultuře kalvarií. Uvedena je koncentrace, která vede k 50% snížení kvocientů hydroxyprolin/prolinu při metabolickém značení s ^{14}C -prolinem /IC₅₀/.

Tabulka 3 /estery/:

| sloučenina | IC ₅₀ /mM/ |
|------------|-----------------------|
| příklad 1 | 0,35 |
| příklad 3 | 0,002 |

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Deriváty oxalylaminokyselin obecného vzorce I



kde

R a R' jsou stejné nebo rozdílné a znamenají C₁-C₆-alkyl nebo vodík,

R¹ znamená vodík nebo C₁-C₄-alkyl

R² znamená vodík, C₁-C₆-alkyl, C₁-C₃-alkoxyskupinu, karboxyl, C₁-C₆-alkoxykarbonyl, aryl, SH, NH₂ nebo halogen, přičemž alkylové zbytky jsou případně substituované arylem, OH, SH nebo NH₂,

nebo

R¹ a R² představují dohromady C₂-C₄-alkylenový řetězec, jakož i sloučeniny ve své čisté nebo D- a L formě, jakož i fyziologicky snesitelné soli pro použití jako léčiva.

2. Deriváty oxalylaminokyselin podle nároku 1 obecného vzorce I, ve kterém

R a R' jsou stejné nebo rozdílné a znamenají C₁-C₃-alkyl, Na nebo K,

R¹ znamená vodík, metyl nebo etyl,

R² znamená vodík nebo C₁-C₄-alkyl, přičemž alkylový zbytek je případně substituovaný fenylem nebo SH,

nebo

- R^1 a R^2 dohromady tvoří C_2 - nebo C_3 -alkylenový řetězec, pro použití jako léčiva.
3. Deriváty oxalylaminokyselin podle nároku 1 nebo 2 obecného vzorce I, ve kterém
- R a R' jsou stejné a znamenají metyl, etyl, Na nebo K,
- R^1 znamená vodík nebo metyl,
- R^2 znamená vodík, C_1 - C_3 -alkyl, benzyl nebo thiometyl
- nebo
- R^1 a R^2 dohromady tvoří etylenový řetězec, pro použití jako léčiva.
4. Deriváty oxalylaminokyselin obecného vzorce I podle nároků 1 až 3 pro inhibici enzymů prolylhydroxylázy nebo lysinhydroxylázy.
5. Deriváty oxalylaminokyselin obecného vzorce I podle nároků 1 až 3 pro použití jako fibrosupresiva a imunosupresiva.
6. Deriváty oxalylaminokyselin obecného vzorce I podle nároků 1 až 3 pro výrobu fibrosupresivně a/nebo imunosupresivně působících léčiv.
7. Deriváty oxalylaminokyselin obecného vzorce I podle nároků 1 až 3 pro výrobu léčiv pro ovlivnění látkové výměny kolagenu a látek podobných kolagenu.
8. Deriváty oxalylaminokyselin obecného vzorce I podle nároků 1 až 3 pro výrobu léčiv pro léčení poruch látkové výměny kolagenu a látek podobných kolagenu.
9. Farmaceutický prostředek s účinkem na látkovou výměnu kolagenu a látek podobných kolagenu, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako účinnou látku obsahuje alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I podle nároků 1 až 3 se snesitelnými farmaceutickými nosiči.

Konec dokumentu
