CH 651 820 A5

(19) SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) CH 651 820 A5

(51) Int. Cl.[4]: C 07 C 101/04
C 07 C 101/20
A 61 K 31/195

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTSCHRIFT A5

(21) Gesuchsnummer: 1912/81

(22) Anmeldungsdatum: 20.03.1981

(30) Priorität(en): 22.03.1980 JP 55-36562

(24) Patent erteilt: 15.10.1985

(45) Patentschrift veröffentlicht: 15.10.1985

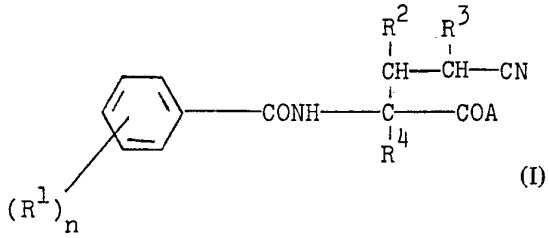
(73) Inhaber:
Sankyo Company Limited, Chuo-ku/Tokyo (JP)

(72) Erfinder:
Nagano, Mitsuo, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)
Hirai, Koichi, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)
Kitamura, Koichi, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)
Shinkai, Kenkichi, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)
Yasuda, Hiroshi, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)

(74) Vertreter:
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG, Patentanwälte, Basel

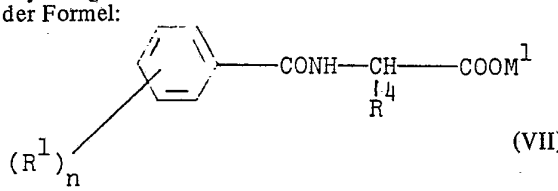
(54) Aminosäurederivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung in Pharmazeutika.

(57) Die Aminosäurederivate entsprechen der Formel:



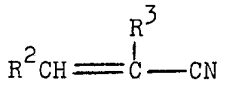
(I)

A, R^1, R^2, R^3, R^4 und n haben die im Patentanspruch 1 angegebenen Bedeutungen. Verbindungen (I), bei welchen A für -0-Alkyl steht, werden durch Bildung der Amidbindung aus dem entsprechenden Aminosäureester und Benzoylhalogenid oder durch Umsetzung einer Verbindung der Formel:



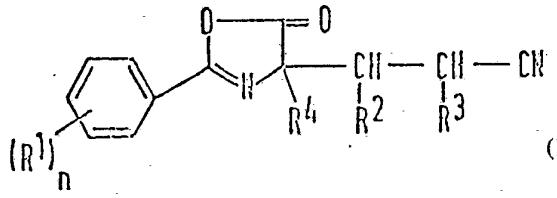
(VII)

mit einer Verbindung der Formel:



(VIII)

hergestellt. Verbindungen (I), bei welchen A für eine Aminogruppe oder eine bestimmte Substituenten tragende Aminogruppe (M^2) steht, werden aus einem Oxazolon der Formel:

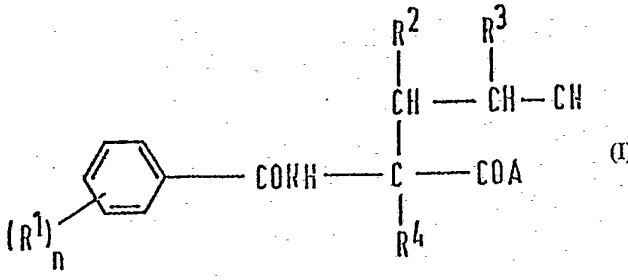


(IX)

und einer entsprechenden Aminoverbindung HM^2 hergestellt. Ein viertes Verfahren besteht in der Decarboxylierung von Verbindungen, bei welchen an Stelle vom R^4 eine Carboxylgruppe vorliegt. Die Verbindungen und ihre pharmazeutisch zulässigen Salze haben immunoregulatorische und antitumor-Eigenschaften.

PATENTANSPRÜCHE

1. Aminosäurederivate der folgenden allgemeinen Formel:



(I)

worin

n eine ganze Zahl von 1 bis 5 bedeutet;

R^1 das Wasserstoffatom, eine Alkylgruppe, eine Halogenalkylgruppe, ein Halogenatom, eine Mercaptogruppe, eine Alkylmercaptogruppe, eine Hydroxylgruppe, eine Alkoxygruppe, eine Acyloxygruppe, eine Carboxylgruppe, eine Alkoxycarbonylgruppe, eine Aminogruppe, eine akylsubstituierte Aminogruppe, eine arylsubstituierte Aminogruppe, eine Acylaminogruppe, eine Halogenalkoxycarbonylaminogruppe, eine Alkansulfonylgruppe, eine Nitrogruppe oder eine Cyanogruppe bedeutet, wobei in jenen Fällen, in denen das Symbol n eine ganze Zahl von 2 bis 5 darstellt, die Symbole R^1 gleiche oder verschiedene Bedeutung haben können;

R^2 und R^3, welche gleich oder verschieden sind, jeweils Wasserstoffatome und/oder Alkylgruppen bedeuten;

R^4 das Wasserstoffatom, eine Alkylgruppe, eine Cyanogruppe, eine Cyanoalkylgruppe, eine Hydroxyalkylgruppe, eine Alkoxycarbonylgruppe, eine Carboxylgruppe, eine Arylgruppe, eine Aralkylgruppe, eine Mercaptoalkylgruppe, eine Alkylthioalkylgruppe oder eine Thioalkylgruppe bedeutet, wobei die freie Bindung des Schwefels in einer solchen Thioalkylgruppe an dem Schwefelatom einer anderen Gruppe der gleichen Formel haftet; und

A die Hydroxylgruppe, eine Alkoxygruppe, eine Aminogruppe, eine alkylsubstituierte Aminogruppe, welche gegebenenfalls im Alkylteil als Substituenten mindestens ein Halogenatom und/oder mindestens eine Carbamoylgruppe aufweist, eine Hydrazinogruppe, eine alkyl- oder arylsubstituierte Hydrazinogruppe, eine Hydroxylaminogruppe, eine Alkoxyaminogruppe oder eine Aralkyloxyaminogruppe bedeutet;

sowie die pharmazeutisch zulässigen Salze dieser Verbindungen.

2. Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^1 das Wasserstoffatom, ein Halogenatom, eine Alkylgruppe, die Hydroxylgruppe, die Cyanogruppe oder eine Alkoxycarbonylgruppe, sowohl R^2 als auch R^3 Wasserstoffatome, R^4 eine Alkylgruppe, eine Carboxylgruppe oder eine Alkoxycarbonylgruppe, A die Hydroxylgruppe oder eine Alkoxygruppe und n die Zahlen 1 oder 2 bedeuten, sowie die pharmazeutisch zulässigen Salze davon.

3. Verbindungen nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass R^1 ein Halogenatom, R^2 sowie R^3 Wasserstoffatome, R^4 eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, A die Hydroxylgruppe oder eine Alkoxygruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen und n die Zahl 1 bedeuten, sowie die pharmazeutisch zulässigen Salze dieser Verbindungen.

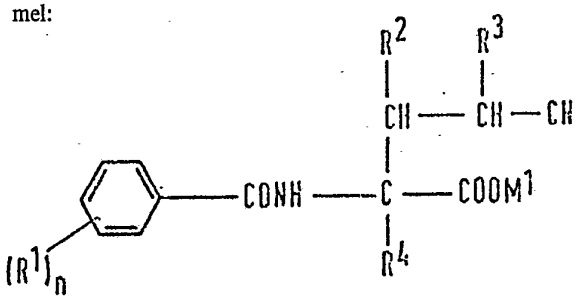
4. Verbindungen nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass R^1 das Chloratom, sowohl R^2 als auch R^3 Wasserstoffatome, R^4 die Methylgruppe, A die Hydroxylgruppe oder eine Alkoxygruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen und n die Zahl 1 bedeuten, sowie die Natrium-, Kalium- und Calciumsalze dieser Verbindung.

5. Als Verbindungen nach Anspruch 1 eine der folgenden Verbindungen:

N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-phenylglycin-methylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-benzoylalanin-methylester;
2-(p-Chlorbenzamido)-4-(cyano-2-(2-cyanoäthyl)-buttersäure--methylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-benzoylaminomalonsäure-diäthylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-benzoylphenylglycin-äthylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-chlorbenzoyl)-alanin-hexadecylester;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-aminomalonsäure-diäthylester;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-serin-methylester;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-leucin-methylester;
N-(m-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(m-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin;
N-(o-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(o-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(2,4-dichlorbenzoyl)-alanin-methylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(2,4-dichlorbenzoyl)-alanin;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-fluorbenzoyl)-alanin-methylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-fluorbenzoyl)-alanin;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-brombenzoyl)-alanin-methylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-brombenzoyl)-alanin;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-glycin-methylester;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-glycin;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-toluoyl)-alanin-methylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-toluoyl)-alanin;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-jodbenzoyl)-alanin-methylester;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-jodbenzoyl)-alanin;
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(pentafluorbenzoyl)-alanin-methylester;
N-Benzoyl-2-(2-cyanopropyl)-phenylglycin-äthylester;
4-Cyano-2-(N-p-chlorbenzamido)-2-methylbutyrylamid;
2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methyl-(N-2-carbamoyl-äthyl)-butyrylamid;
2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methyl-(N-2-chloräthyl)--butyrylamid;
2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methylbutyrylhydroxamid;
2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methyl-(N-dimethyl)--butyrylamid;
N-(3,4-Dihydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Acetoxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Hydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Methoxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Nitrobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Cyanobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(o-Acetoxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(o-Hydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Methoxycarbonylbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-[p-(2,2,2-trichloräthoxycarbonyl)-aminobenzoyl]-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Aminobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(2-Acetoxy-4-chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(4-Chlor-2-hydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(3-Fluor-4-methylbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(2-Mercaptobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(2-Amino-4-chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(4-Chlor-3-nitrobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-methionin-methylester;
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-phenylalanin-methylester;
Dihydrat des Dinatriumsalzes der 2-(p-Chlorbenzoylamino)-2--(2-cyanoäthyl)-malonsäure;
2-(p-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure;
Monohydrat des Dinatriumsalzes der 2-(o-Chlorbenzoylamino)--2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure;

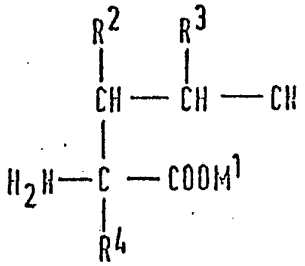
Monohydrat des Dinatriumsalzes der 2-(p-Methylbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure; und
2-(o-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure.

6. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel:



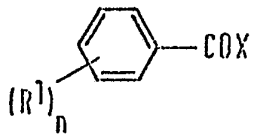
(IV)

worin n, R^1, R^2, R^3 und R^4 die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben und M^1 eine Alkylgruppe darstellt, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Aminosäurederivat der Formel:



(II)

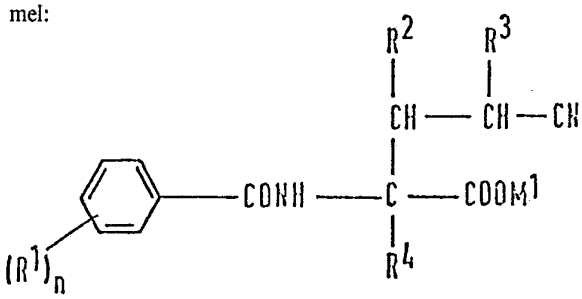
worin R^2, R^3, R^4 und M^1 die obigen Bedeutungen haben, mit einem Säurehalogenid der Formel:



(III)

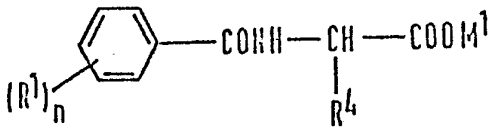
worin R^1 und n die obigen Bedeutungen haben und X ein Halogenatom darstellt, in Gegenwart einer Base und eines inerten Lösungsmittels zur Umsetzung bringt.

7. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel:



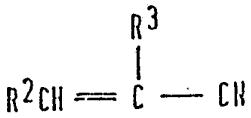
(IV)

worin n, R^1, R^2, R^3 und R^4 die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben und M^1 eine Alkylgruppe darstellt, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Aminosäurederivat der Formel:



(VII)

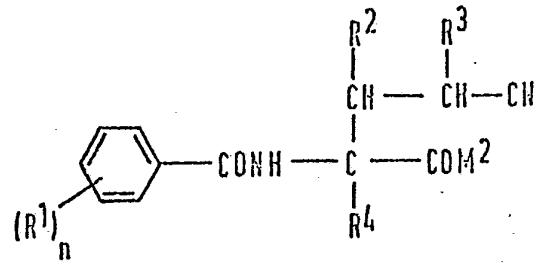
worin R^1, R^4, M^1 und n die obigen Bedeutungen haben, mit einer Verbindung der Formel:



(VIII)

worin R^2 und R^3 die obigen Bedeutungen haben, in Gegenwart einer starken Base umsetzt.

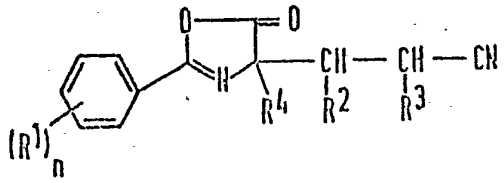
8. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel:



(XI)

worin n, R^1, R^2, R^3 und R^4 die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben und

M^2 eine Aminogruppe, eine alkylsubstituierte Aminogruppe, deren Alkylteil gegebenenfalls mit mindestens einem Halogenatom oder mit mindestens einer Carbamoylgruppe substituiert ist, eine Hydrazinogruppe, eine alkyl- oder arylsubstituierte Hydrazinogruppe, eine Hydroxylaminogruppe, eine Alkoxyaminogruppe oder eine Aralkyloxyaminogruppe bedeutet, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Oxazolon der Formel:



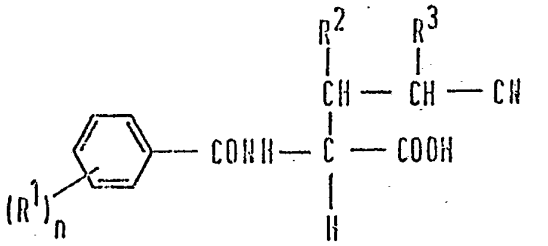
(IX)

worin R^1, R^2, R^3, R^4 und n die obigen Bedeutungen haben, mit einer organischen Base der Formel:

$$HM^2 \qquad (X)$$

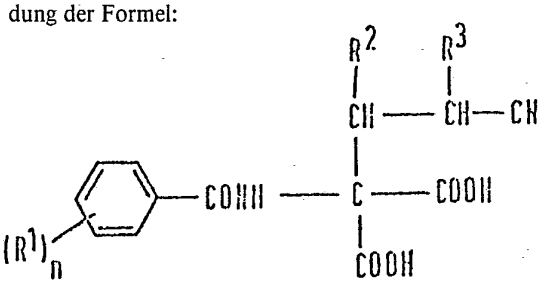
worin M^2 die obige Bedeutung hat, umsetzt.

9. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel:



(XIII)

worin n, R^1, R^2 und R^3 die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel:



(XII)

worin R^1, R^2, R^3 und n die obigen Bedeutungen haben, erhitzt.

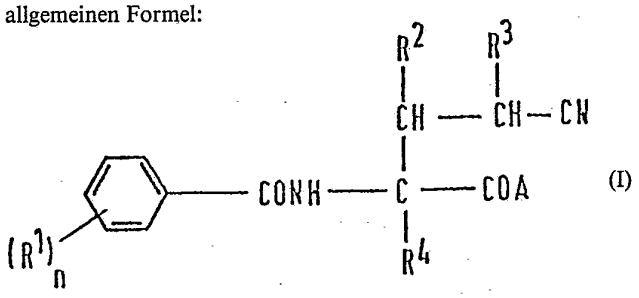
10. Pharmazeutische Präparate, dadurch gekennzeichnet, dass sie nebst einem pharmazeutischen Träger oder Verdünnungsmittel eine Wirksubstanz gemäss Anspruch 1 mit immunoregulatorischer Wirkung oder Antitumorwirkung enthalten.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf neue N-Benzoyl-aminoalkansäurederivate, die in 2-Stellung einen gegebenenfalls substituierten Cyanoäthylrest aufweisen, ferner auf ihre Verwendung in pharmazeutischen Präparaten und auf Verfahren zu ihrer Herstellung. Die erfindungsgemässen Verbindungen besitzen immunoregulatorische Wirkungen und Antitumorwirkungen.

In der Literatur, vgl. Knobler Y. et al., J. Chem. Soc. C. (14) 1821-1824 (1969), werden N-Benzoylglutaminsäurederivate mit substituiertem Benzoylrest geoffenbart. Sie besitzen anstelle des 2-Cyanoäthylsubstituenten der erfindungsgemässen Verbindungen einen 2-Carboxyäthylsubstituenten. Ferner beschreiben Wakamatsu H. et al., J. Chem. Soc. D. Chem. Commun., (23) 1540 (1971) das 2-(2-Cyanoäthyl)-N-acetylglycin und Pichat L. et al., Bull. Soc. Chim. Fr. 1970(5) 1837-1838 als Zwischenprodukt für Aminosäuresynthesen das 2-(3-Cyanopropyl)-N-benzoylglycin. Bei keiner dieser Verbindungen wird irgendwie erwähnt, dass sie immunoregulatorische Wirkungen oder Antitumorwirkungen ausüben. Andererseits beschreiben Umezawa H. et al., J. Antibiotics 29(8) 857-859 (1976) die Verbindung «Bestatin», welche das [(2S,3R)-3-Amino-2-hydroxy-4-phenylbutanoyl]-L-leucin darstellt, dem man eine Antitumorwirkung zuschreibt. Die Struktur dieser Verbindung ist aber von jener der erfindungsgemässen Verbindungen grundverschieden. Schliesslich bemerkten Kobayashi S. et al. in «Synthesis and Immulogical Activities of Muramyl Dipeptide Derivatives» am 7. Symposium über «Progress in Organic Reactions and Synthesis» in Gifu, Japan, im Jahre 1980, dass gewisse Dipeptide eine immunologische Aktivität ausüben und dass diese Dipeptide eine Antitumoraktivität haben dürften. Aber auch diese letzteren Verbindungen unterscheiden sich von den erfindungsgemässen Verbindungen durchwegs bezüglich ihrer Struktur.

Es ergibt sich daraus, dass aus dem Stand der Technik keine immunoregulatorischen Mittel oder antineoplastischen Mittel, welchen die Struktur der erfindungsgemässen Verbindungen eigen wäre, bekannt geworden sind.

Die Erfindung bezieht sich auf Verbindungen der folgenden allgemeinen Formel:



(I)

worin

n eine ganze Zahl von 1 bis 5 bedeutet;

R^1 das Wasserstoffatom, eine Alkylgruppe, eine Halogenalkylgruppe, ein Halogenatom, eine Mercaptogruppe, eine Alkylmercaptogruppe, eine Hydroxylgruppe, eine Alkoxygruppe, eine Acyloxygruppe, eine Carboxylgruppe, eine Alkoxycarbonylgruppe, eine Aminogruppe, eine akylsubstituierte Aminogruppe, eine arylsubstituierte Aminogruppe, eine Acylaminogruppe, eine Halogenalkoxycarbonylaminogruppe, eine Alkansulfonylgruppe, eine Nitrogruppe oder eine Cyanogruppe bedeutet, wobei in jenen Fällen, in denen das Symbol n eine ganze Zahl von 2 bis 5 darstellt, die Symbole R^1 gleiche oder verschiedene Bedeutung haben können;

R^2 und R^3, welche gleich oder verschieden sind, jeweils Wasserstoffatome und/oder Alkylgruppen bedeuten;

R^4 das Wasserstoffatom, eine Alkylgruppe, eine Cyanogruppe, eine Cyanoalkylgruppe, eine Hydroxyalkylgruppe, eine Alkoxycarbonylgruppe, eine Carboxylgruppe, eine Arylgruppe, eine Aralkylgruppe, eine Mercaptoalkylgruppe, eine Alkylthioalkylgruppe oder eine Thioalkylgruppe bedeutet, wobei die freie Bindung des Schwefels in einer solchen Thioalkylgruppe an dem Schwefelatom einer anderen Gruppe der gleichen Formel haftet; und

A die Hydroxylgruppe, eine Alkoxygruppe, eine Aminogruppe, eine alkylsubstituierte Aminogruppe, welche gegebenenfalls im Alkylteil als Substituenten mindestens ein Halogenatom und/oder mindestens eine Carbamoylgruppe aufweist, eine Hydrazinogruppe, eine alkyl- oder arylsubstituierte Hydrazinogruppe, eine Hydroxylaminogruppe, eine Alkoxyaminogruppe oder eine Aralkyloxyaminogruppe bedeutet.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auch auf die pharmazeutisch zulässigen Salze dieser Verbindungen.

Ferner bezieht sich die vorliegende Erfindung auf verschiedene Verfahren für die Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel I und ihrer pharmazeutisch zulässigen Salze.

Schliesslich bezieht sich die vorliegende Erfindung auf pharmazeutische Präparate, welche für eine immunoregulatorische Behandlung oder Tumorbehandlung wertvoll sind, wobei diese Präparate mindestens eine Verbindung der allgemeinen Formel I oder ein pharmazeutisch zulässiges Salz davon zusammen mit mindestens einem pharmazeutisch zulässigen Trägermittel oder Verdünnungsmittel enthalten.

In den Verbindungen der allgemeinen Formel I, worin R^1 eine Alkylgruppe darstellt, kann es sich um eine geradkettige oder verzweigte Gruppe handeln. Vorzugsweise handelt es sich um eine solche mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, wie z.B. die Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Isopropyl- oder tert.-Butylgruppe.

Sofern R^1 eine Halogenalkylgruppe darstellt, handelt es sich vorzugsweise um eine solche mit 1 oder 2 Kohlenstoffatomen, z.B. um die Trifluormethyl- oder 2,2,2-Trichloräthylgruppe.

In jenen Fällen, in denen R^1 ein Halogenatom bedeutet, kann es sich um das Chlor-, Brom-, Jod- oder Fluoratom handeln.

Wo R^1 eine Alkylmercaptogruppe darstellt, kann diese Gruppe eine geradkettige oder verzweigte Gruppe mit vorzugsweise 1 bis 16 Kohlenstoffatomen sein. Beispiele hiefür sind die Methylthio-, Äthylthio-, Propylthio-, Isopropylthio-, Butylthio-, tert.-Butylthio- oder Hexadecylthiogruppe.

Sofern R^1 für eine Alkoxygruppe steht, kann diese Gruppe eine geradkettige oder verzweigte Gruppe mit vorzugsweise 1 bis 16 Kohlenstoffatomen sein. Beispiele hiefür sind die Methoxy-, Äthoxy-, Propoxy-, Isopropoxy-, Butoxy-, tert.-Butoxy- oder Hexadecyloxygruppe.

Wenn R^1 eine Acyloxygruppe bedeutet, ist sie vorzugsweise eine geradkettige oder verzweigte Alkanoyloxygruppe mit 2 bis 16 Kohlenstoffatomen oder eine Benzoyloxygruppe, welche im aromatischen Ring gegebenenfalls mindestens einen Substituenten tragen kann. Beispiele von Alkanoyloxygruppen sind die Acetoxy-, Propanoyloxy-, Butyryloxy-, Isobutyryloxy-, Pivaloyloxy- und Palmitoyloxygruppen. Die Benzoyloxygruppe kann im aromatischen Ring als Substituenten gegebenenfalls eine oder mehrere Alkylgruppen, z.B. Methyl-, Äthyl-, Propyl- oder Isopropylgruppen, niedere Alkoxygruppen, z.B. Methoxy-, Äthoxy-, Propoxy- oder Isopropoxygruppen, Halogenatome, z.B. Chlor, Brom, Jod oder Fluor, Nitrogruppen, Trifluormethylgruppen, Cyanogruppen, Hydroxylgruppen, Aminogruppen oder Carboxylgruppen aufweisen.

Sofern R^1 eine Alkoxycarbonylgruppe darstellt, kann auch diese Gruppe eine geradkettige oder verzweigte Gruppe mit vorzugsweise 2 bis 17 Kohlenstoffatomen bedeuten. Beispiele hiefür sind die Methoxycarbonyl-, Äthoxycarbonyl-, Propoxycarbonyl-, Isopropoxycarbonyl-, Butoxycarbonyl-, Isobutoxycarbonyl-, tert.-Butoxycarbonyl- oder Hexadecyloxycarbonylgruppe.

Sofern R^1 eine alkylsubstituierte Aminogruppe ist, kann der Alkylsubstituent bzw. können die Alkylsubstituenten geradkettige oder verzweigte Gruppen sein. Vorzugsweise werden sie niedere Alkylgruppen sein. Beispiele solcher alkylsubstituierter Aminogruppen sind die Methylamino-, Äthylamino-, Propyl-

amino-, Isobutylamino-, Dimethylamino-, Diäthylamino- und Diisopropylaminogruppe.

Sofern R^1 eine arylsubstituierte Aminogruppe ist, kann sie beispielsweise eine Phenylaminogruppe sein. Der Arylsubstituent kann gegebenenfalls seinerseits im aromatischen Ring mindestens einen Substituenten tragen. Als Substituenten kann man eine oder mehrere niedere Alkylgruppen, wie z.B. Methyl-, Äthyl-, Propyl- oder Isopropylgruppen, niedere Alkoxygruppen, wie z.B. Methoxy-, Äthoxy-, Propoxy- oder Isopropoxygruppen, Halogenatome, wie z.B. Chlor, Brom, Jod oder Fluor, Nitrogruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Aminogruppen oder Carboxylgruppen nennen.

Sofern R^1 eine Acylaminogruppe darstellt, kann sie eine geradkettige oder verzweigte Alkanoylaminogruppe mit vorzugsweise 2 bis 16 Kohlenstoffatomen sein. Beispiele hiefür sind die Acetylamino-, Propionylamino-, Butyrylamino-, Isobutyrylamino-, Pivaloylamino- oder Palmitoylaminogruppe. Die Acylaminogruppe kann auch eine Benzoylaminogruppe sein, welche gegebenenfalls im aromatischen Ring mindestens einen Substituenten tragen kann. Die Substituenten sind vorzugsweise eine oder mehrere niedere Alkylgruppen, wie z.B. Methyl-, Äthyl-, Propyl- oder Isopropylgruppen, niedere Alkoxygruppe, wie z.B. Methoxy-, Äthoxy-, Propoxy- oder Isopropoxygruppen, Halogenatome, wie z.B. Chlor, Brom, Jod oder Fluor, Nitrogruppen, Trifluormethylgruppen, Hydroxylgruppen, Aminogruppen und Carboxylgruppen.

Wo R^1 für eine Halogenalkoxycarbonylaminogruppe steht, handelt es sich vorzugsweise um die 2,2,2-Trichloräthoxycarbonylamino-, oder 2,2,2-Tribromäthoxycarbonylaminogruppe.

Wenn R^1 eine Alkansulfonylgruppe darstellt, wird sie vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome aufweisen. Beispiele hiefür sind die Methansulfonyl-, Äthansulfonyl-, Propansulfonyl- oder Butansulfonylgruppe.

In jenen Fällen, in denen entweder R^2 oder R^3 eine Alkylgruppe darstellt, kann sie eine geradkettige oder verzweigte Gruppe mit vorzugsweise 1 bis 3 Kohlenstoffatomen sein. Beispiele hiefür sind die Methyl-, Äthyl-, Propyl- oder Isopropylgruppe.

Sofern R^4 eine Alkylgruppe bedeutet, kann sie eine geradkettige oder verzweigte Gruppe mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen sein. Beispiele hiefür sind die Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl-, Isobutyl- oder tert.-Butylgruppe.

Sofern R^4 eine Cyanoalkylgruppe darstellt, wird sie vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome im Alkylteil aufweisen. Beispiele hiefür sind die Cyanomethyl-, 2-Cyanoäthyl-, 3-Cyanopropyl- oder 4-Cyanobutylgruppen.

Wenn R^4 eine Hydroxylalkylgruppe bedeutet, wird sie vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome im Alkylteil aufweisen. Beispiele hiefür sind die Hydroxymethyl-, 2-Hydroxyäthyl- oder 4-Hydroxybutylgruppen.

Sofern R^4 eine Alkoxycarbonylgruppe bedeutet, kann sie eine geradkettige oder verzweigte Gruppe mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen im Alkoxyteil darstellen. Beispiele hiefür sind die Methoxycarbonyl-, Äthoxycarbonyl-, Propoxycarbonyl-, Butoxycarbonyl- oder Isobutoxycarbonylgruppe.

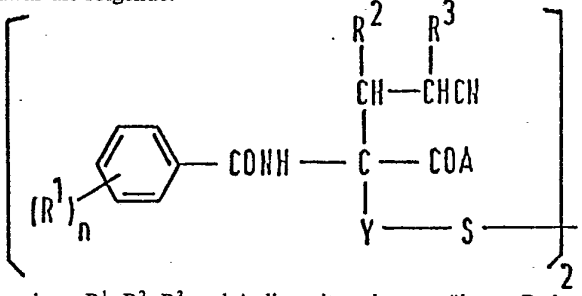
In jenen Fällen, in denen R^4 eine Arylgruppe darstellt, handelt sich sich vorzugsweise um die Phenylgruppe, welche gegebenenfalls im aromatischen Ring einen oder mehrere Substituenten tragen kann. Beispiele sind niedere Alkylgruppen, wie z.B. Methyl-, Äthyl-, Propyl- oder Isopropylgruppen, niedere Alkoxygruppen, wie z.B. Methoxy-, Äthoxy-, Propoxy- oder Isopropoxygruppen, Trifluormethylgruppen, Cyanogruppen, Hydroxylgruppen, Nitrogruppen, Aminogruppen oder Halogenatome, wie z.B. Fluor, Chlor oder Brom.

Sofern R^4 für eine Aralkylgruppe steht, handelt es sich vorzugsweise um die Benzyl-, Phenyläthyl- oder Phenylpropylgruppe, welche gegebenenfalls im aromatischen Ring mindestens einen Substituenten tragen kann. Beispiele solcher Substituenten sind die gleichen, wie sie weiter oben im Zusammenhang mit jenem Fall erwähnt worden sind, in welchem R^4 für Aryl steht.

Sofern R^4 eine Mercaptoalkylgruppe bedeutet, wird sie vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome im Alkylteil aufweisen. Beispiele hiefür sind die Mercaptomethyl-, Mercaptoäthyl-, Mercaptopropyl- oder Mercaptobutylreste.

Wo R^4 eine Alkylthioalkylgruppe darstellt, wird jeder der Alkylteile vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome aufweisen. Beispiele hiefür sind die Methylthiomethyl-, Methylthioäthyl-, Methylthiobutyl- oder Propylthioäthylgruppen.

Sofern R^4 eine Thioalkylgruppe darstellt, wird der Alkylteil vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome aufweisen. Die freie Bindung des Schwefelatoms in der Thioalkylgruppe ist mit dem Schwefelatom einer Gruppe der gleichen Formel verbunden, so dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I in solchen Fällen eine symmetrische Struktur der Gesamtformel aufweist und zwar die folgende:



worin n, R^1, R^2, R^3 und A die weiter oben erwähnten Bedeutungen haben und Y einen zweiwertigen, gesättigten, aliphatischen Kohlenwasserstoffrest mit vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatomen darstellt.

Sofern A eine Alkoxygruppe darstellt, kann sie eine geradkettige oder verzweigte Gruppe mit vorzugsweise 1 bis 16 Kohlenstoffatomen bedeuten. Beispiele hiefür sind die Methoxy-, Äthoxy-, Propoxy-, Isopropoxy-, Hexyloxy-, Decyloxy- oder Hexadecyloxygruppen.

In jenen Fällen, in denen A für eine alkylsubstituierte Aminogruppe steht, wird der Alkylteil vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome aufweisen. Beispiele hiefür sind die Methylamino-, Dimethylamino-, Äthylamino-, Diäthylamino-, Propylamino-, Isopropylamino-, Butylamino- oder Isobutylaminogruppen. Der Alkylteil kann gegebenenfalls Halogen- oder Carbamoylsubstituenten aufweisen. Beispiele hiefür sind die 2-Chloräthylamino-, 2-Bromäthylamino-, 3-Chlorpropylamino-, 2-Carbamoyläthylamino- oder 3-Carbamoylpropylaminogruppen.

Sofern A für eine alkylsubstituierte Hydrazinogruppe steht, wird sie vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome im Alkylteil aufweisen. Beispiele hiefür sind die Methylhydrazino-, N,N-Dimethylhydrazino-, Äthylhydrazino- oder N,N-Diäthylhydrazinogruppen.

Sofern A eine arylsubstituierte Hydrazinogruppe bedeutet, ist es vorzugsweise die Phenylhydrazinogruppe. Der aromatische Ring kann einen oder mehrere Substituenten, nämlich niedere Alkylgruppen, wie z.B. Methyl-, Äthyl-, Propyl- oder Isopropylgruppen, niedere Alkoxygruppen, wie z.B. Methoxy-, Äthoxy-, Propoxy- oder Isopropoxygruppen, oder Halogenatome, wie z.B. Fluor, Chlor oder Brom, enthalten.

In jenen Fällen, in denen A für eine Alkoxyaminogruppe steht, wird sie vorzugsweise 1 bis 4 Kohlenstoffatome im Alkoxyteil aufweisen. Beispiele hiefür sind die Methoxyamino-, Äthoxyamino-, Propoxyamino- oder Isopropoxyaminogruppen.

Wenn A eine Aralkyloxyaminogruppe bedeutet, handelt es sich vorzugsweise um die Benzyloxyaminogruppe. Der aromatische Ring kann überdies gegebenenfalls mindestens einen der folgenden Substituenten tragen, nämlich niedere Alkylgruppen, niedere Alkoxygruppen oder Halogenatome, wie sie als fakultative Substituenten für jene Fälle erwähnt worden sind, in welchen R^4 eine arylsubstituierte Hydrazinogruppe darstellt.

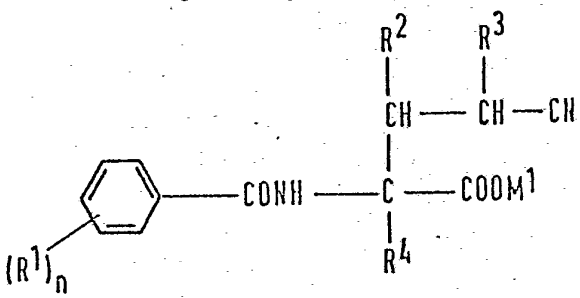
Bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel I sind wegen der Leichtigkeit ihrer Herstellung und zufolge ihrer pharmazeutischen Wirkung jene, in welchen R^1 das Wasserstoffatom, ein Halogenatom, eine Alkylgruppe, eine Hydroxylgruppe, eine Cyanogruppe oder eine Alkoxycarbonylgruppe, sowohl R^2 als auch R^3 Wasserstoffatome, R^4 eine Alkylgruppe, eine Carboxylgruppe oder eine Alkoxycarbonylgruppe, A die Hydroxylgruppe oder eine Alkoxygruppe und n die Zahl 1 oder 2 bedeuten. Ebenfalls bevorzugt werden die pharmazeutisch zulässigen Salze dieser Verbindungen.

Insbesondere wird man den folgenden Verbindungen den grössten Vorzug geben, nämlich jenen, in welchen R^1 ein Halogenatom und insbesondere ein Chloratom, R^2 und R^3 jeweils Wasserstoffatome, R^4 eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen und vorzugsweise die Methylgruppe, A die Hydroxylgruppe oder eine Alkoxygruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen und n die Zahl 1 bedeuten. Ganz besonders bevorzugt werden auch die pharmazeutisch zulässigen Salze dieser Verbindungen und zwar insbesondere die Natriumsalze.

Die erfindungsgemässen Verbindungen der Formel I werden nach verschiedenen Verfahren hergestellt, welche nachstehend beschrieben werden.

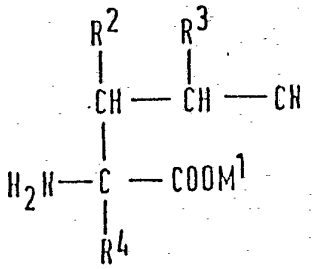
Verfahren 1

Die Verbindungen der folgenden allgemeinen Formel:



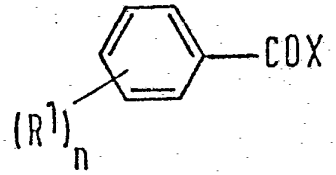
(IV)

worin R^1, R^2, R^3, R^4 und n die obigen Bedeutungen haben und M^1 eine Alkylgruppe darstellt, werden dadurch hergestellt, dass man ein Aminosäurederivat der folgenden allgemeinen Formel:



(II)

worin R^2, R^3, R^4 und M^1 die obigen Bedeutungen haben, mit einem Säurehalogenid der folgenden allgemeinen Formel:



(III)

worin R^1 und n die obigen Bedeutungen haben und X ein Halogenatom, z.B. das Chloratom oder das Bromatom, bedeutet, in Gegenwart einer Base und eines inerten Lösungsmittels umsetzt.

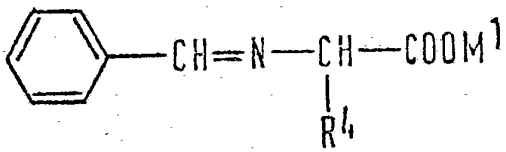
Die Umsetzung verläuft in stöchiometrischen Mengen unter Verwendung der Reaktionsteilnehmer in äquimolaren Mengen. Sie erfolgt in Gegenwart einer Base, welche eine organische Base, z.B. ein tertiäres Amin, wie z.B. Triäthylamin, Dimethylanilin, Diäthylanilin oder Pyridin, oder eine anorganische Base, wie z.B. ein Alkalimetallhydroxyd, wie z.B. Kaliumhydroxyd, ein Alkalimetallbicarbonat, z.B. Kaliumbicarbonat oder Natriumbicarbonat, oder ein Erdalkalimetallhydroxyd, z.B. Calciumhydroxyd oder Magnesiumhydroxyd, sein kann. Verwendet man bei der Umsetzung ein organisches Lösungsmittel, so wird man sie vorzugsweise in Gegenwart eines tertiären Amins durchführen. Andererseits wird man in jenen Fällen, in denen das Reaktionslösungsmittel eine Mischung eines organischen Lösungsmittels mit Wasser ist, die Umsetzung in Gegenwart eines Alkalimetallbicarbonats, z.B. Natriumbicarbonat oder Kaliumbicarbonat, durchführen.

Man kann die Wahl des für die Reaktion einzusetzenden Lösungsmittels beliebig treffen. Das Lösungsmittel kann beispielsweise ein Alkohol, z.B. Methanol, Äthanol, Propanol, Isopropylalkohol oder Butanol, ein aromatischer Kohlenwasserstoff, z.B. Benzyl, Toluol oder Xylol, ein Keton, z.B. Aceton, Methylbutylketon oder Methylamylketon, ein halogenierter Kohlenwasserstoff, z.B. Tetrachloräthan, Chlorbenzol oder Dichlorbenzol, ein Nitril, z.B. Benzonitril oder Acetonitril, ein Amid, z.B. N,N-Dimethylformamid, N,N-Dimethylacetamid oder Hexamethylphosphorsäuretriamid, Dimethylsulfoxyd, ein Gemisch von beliebigen dieser Lösungsmittel oder ein Gemisch eines solchen Lösungsmittels mit Wasser ein.

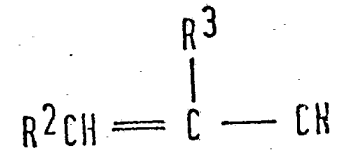
Die Reaktionstemperatur kann ebenfalls in weiten Grenzen schwanken, liegt aber im allgemeinen zwischen —20°C und 100°C und vorzugsweise zwischen 0°C und 30°C. Die Reaktionsdauer schwankt je nach der Natur der Ausgangsmaterialien und je nach der Reaktionstemperatur, liegt aber im allgemeinen zwischen 1 und 5 Stunden.

Nach beendeter Umsetzung kann man das gewünschte Produkt der Formel IV in an sich bekannter Weise aus dem Reaktionsgemisch gewinnen. So kann man das gewünschte Produkt in jenen Fällen, in denen es im Reaktionsgemisch als Niederschlag anfällt, durch Filtrieren gewinnen. Sofern keine Ausfällung stattfindet, kann man das Produkt durch Abdestillieren des Lösungsmittels aus dem Reaktionsgemisch gewinnen. Nötigenfalls kann man das so erhaltene Produkt beispielsweise durch Umkristallisieren, Vakuumdestillation oder Chromatographie weiter reinigen.

Die bei dieser Umsetzung als Ausgangsmaterialien eingesetzten Aminosäurederivate der Formel II lassen sich nach der Methode herstellen, die in Tetrahedron Letters, Nr. 17, S. 1455 bis 1458 (1977) beschrieben ist. So kann man eine Schiff'sche Base der folgenden allgemeinen Formel:

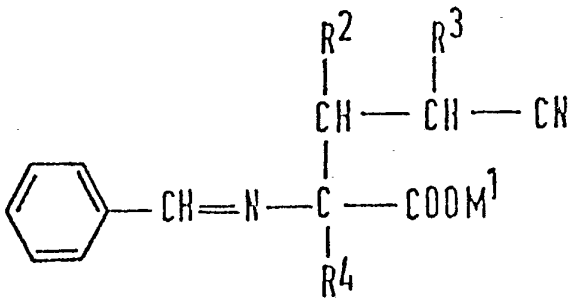


worin R^4 und M^1 die obigen Bedeutungen haben, mit einer Verbindung der folgenden allgemeinen Formel:

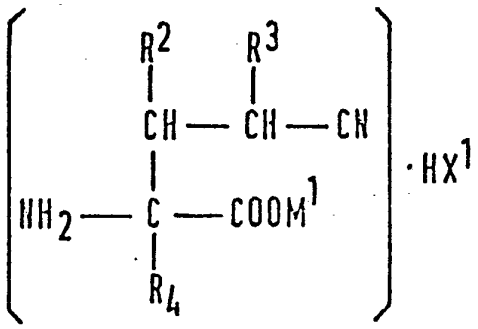


(VIII)

worin R^2 und R^3 die obigen Bedeutungen haben, in Gegenwart einer starken Base, z.B. Trimethylbenzylammoniumhydroxyd (erhältlich als 40%ige Methanollösung unter der Markenbezeichnung «Triton B»), 1,5-Diazabicyclo-[4,3,0]-5-nonen (DBN) oder 1,8-Diazabicyclo-[5,4,0]-7-undecen (DBU), umsetzen, wobei man zu einer Verbindung der folgenden allgemeinen Formel gelangt:



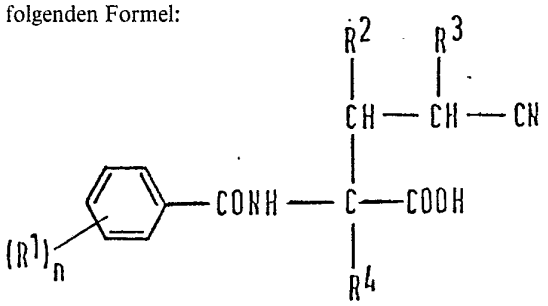
worin R^2, R^3, R^4 und M^1 die obigen Bedeutungen haben, worauf man die so erhaltene Verbindung mit einer Säure, z.B. einer Mineralsäure, wie z.B. Salzsäure, hydrolysiert und das entstandene Produkt mit einer Base neutral stellt. Die Hydrolyse führt dann zu einem Salz des gewünschten Aminosäurederivates der Formel II, welchem die folgende Formel zukommt:



worin R^2, R^3, R^4 und M^1 die obigen Bedeutungen haben und X^1 ein Halogenatom oder eine Sulfatgruppe bedeutet.

Die so erhaltene Verbindung lässt sich direkt für die Umsetzung mit einem Säurehalogenid der Formel III in einem wässrigen Reaktionsgemisch ohne vorherige Isolierung der freien Verbindung verwenden.

Die so erhaltenen Verbindungen der Formel IV lassen sich mit einem Alkalimetallhydroxyd in Wasser oder in einem wässrigen organischen Lösungsmittel hydrolysieren, wobei man zu einem Metallsalz des entsprechenden Carbonsäurederivates der folgenden Formel:



(V)

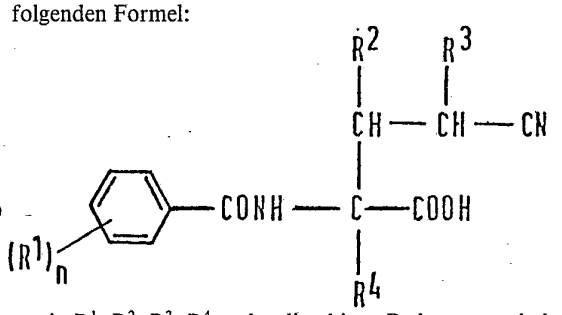
worin M^3 ein Alkalimetall, z.B. Natrium oder Kalium, darstellt und R^1, R^2, R^3, R^4 und n die obigen Bedeutungen haben, gelangt.

Diese Umsetzung erfolgt stöchiometrisch unter Verwendung der Reaktionspartner in äquimolaren Mengen. Vorzugsweise wird man aber einen Überschuss an Alkalimetallhydroxyd verwenden, und zwar 1,0 bis 2,0 Mol Alkalimetallhydroxyd pro Mol der Verbindung der Formel IV.

Verwendet man bei dieser Umsetzung ein wässriges organisches Lösungsmittel, so kann man ein beliebiges organisches Lösungsmittel einsetzen, vorausgesetzt, dass es die Umsetzung nicht beeinträchtigt. Man kann beispielsweise einen Alkohol, z.B. Methanol, Äthanol, Propanol, Isopropylalkohol oder Butanol, oder ein Keton, z.B. Aceton oder Methylbutylketon, verwenden. Als Alkalimetallhydroxyde kommen beispielsweise Natriumhydroxyd oder Kaliumhydroxyd in Frage. Die Reaktionstemperatur liegt vorzugsweise bei 0°C bis 50°C.

Nach beendeter Umsetzung kann man das gewünschte Produkt der Formel V in an sich bekannter Weise aus dem Reaktionsgemisch gewinnen. So kann man es, sofern es in Form eines Niederschlags erhalten wird, abfiltrieren und mittels eines bezüglich des Produktes nicht als Lösungsmittel wirkenden Mittels waschen. Wird das Produkt nicht ausgefällt, so kann man dem Reaktionsgemisch einen Alkohol, z.B. Methanol oder Äthanol, oder ein Keton, z.B. Aceton oder Methyläthylketon, hinzugeben, um das gewünschte Produkt auszufällen, worauf man den Niederschlag in üblicher Weise sammelt.

Das so erhaltene Produkt der Formel V kann hierauf mit einer Säure in Wasser oder einem wässrigen organischen Lösungsmittel neutralisiert werden, um die freie Carbonsäure der folgenden Formel:



(VI)

worin R^1, R^2, R^3, R^4 und n die obigen Bedeutungen haben, zu erhalten.

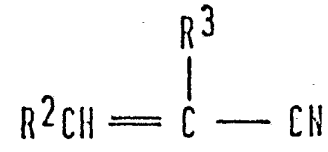
Das so erhaltene Produkt der Formel VI kann in an sich bekannter Weise aus dem Reaktionsgemisch gewonnen werden. So kann man es in jenen Fällen, in denen es als Ausfällung im Reaktionsgemisch erhalten worden ist, durch Filtrieren gewinnen. Sofern das Produkt nicht ausgefällt worden ist, kann man es durch Abdestillieren des Lösungsmittels, durch Extraktion des Rückstandes mit einem mit Wasser nicht mischbaren, organischen Lösungsmittel und durch Abdestillieren des Lösungsmittels aus dem Extrakt gewinnen. Es bestehen keine Beschränkungen bezüglich des für diese Extraktion zu verwendenden, mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittels. Beispiele hiefür sind Äther, wie z.B. Dimethyläther und Diäthyläther, halogenierte Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Dichlormethan oder Chloroform, aromatische Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Benzol, Toluol oder Xylol, oder Ester, wie z.B. Äthylacetat. Nötigenfalls kann man das so erhaltene Produkt der Formel VI beispielsweise durch Umkristallisieren oder durch Chromatographie weiter reinigen.

Verfahren 2

Die oben definierten Verbindungen der Formel IV werden auch dadurch hergestellt, dass man ein Aminosäurederivat der folgenden allgemeinen Formel:

(VII)

worin R^1, R^4, M^1 und n die obigen Bedeutungen haben, mit einer Verbindung der folgenden allgemeinen Formel:



(VIII)

worin R^2 und R^3 die obigen Bedeutungen haben, in Gegenwart einer starken Base umsetzt.

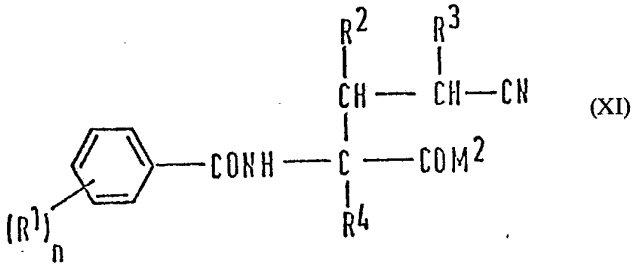
Diese Umsetzung erfolgt stöchiometrisch unter Verwendung der Reaktionsteilnehmer in äquimolaren Mengen. Man wird aber vorzugsweise einen Überschuss der Verbindung der Formel VIII und der Base anwenden, indem man jeweils 1,0 bis 1,5

Mol davon pro Mol der Verbindung der Formel VII einsetzt. Als starke Basen kommen beispielsweise 1,5-Diazabicyclo-[4,3,0]-5-nonen (DB), 1,8-Diazabicyclo-[5,4,0]-7-undecen (DBU) oder ein Metallhydrid, wie z.B. Natriumhydrid oder Kaliumhydrid, in Frage. Die für diese Umsetzung zu verwendenden Lösungsmittel unterliegen keinen speziellen Beschränkungen, vorausgesetzt, dass das Lösungsmittel die Umsetzung nicht beeinträchtigt. Geeignete Lösungsmittel umfassen halogenierte Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Chloroform, Dichlormethan oder Dichloräthan, Äther, wie z.B. Dimethyläther, Diäthyläther, Diisopropyläther, Dioxan oder Tetrahydrofuran, und Amide, wie z.B. N,N-Dimethylformamid, N,N-Diäthylacetamid oder Hexamethylphosphorsäuretriamid. Die Reaktionstemperatur liegt mit Vorteil zwischen 0°C und 50°C und vorzugsweise zwischen 20°C und 30°C. Die Reaktionsdauer schwankt je nach der Natur der Ausgangsmaterialien und der Reaktionstemperatur, liegt aber im allgemeinen zwischen 2 Stunden und 20 Stunden.

Nach beendeter Umsetzung kann man das gewünschte Produkt durch Waschen des Reaktionsgemisches mit Wasser und durch Abdestillieren des Lösungsmittels erhalten. Nötigenfalls kann man das so erhaltene Produkt beispielsweise durch Umkristallisieren, Vakuumdestillation oder Chromatographie weiter reinigen.

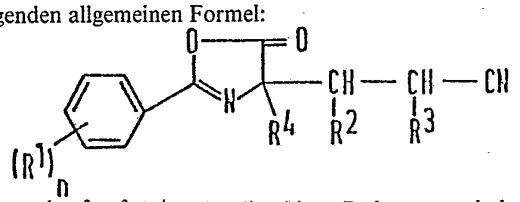
Verfahren 3

Die Verbindungen der folgenden allgemeinen Formel:



(XI)

worin R^1, R^2, R^3, R^4 und n die obigen Bedeutungen haben und M^2 die gleiche Bedeutung wie das oben definierte Symbol A hat, jedoch mit der Ausnahme einer Hydroxyl- oder Alkoxygruppe, werden dadurch hergestellt, dass man ein Oxazolon der folgenden allgemeinen Formel:



(IX)

worin R^1, R^2, R^3, R^4 und n die obigen Bedeutungen haben, mit einer organischen Base der folgenden allgemeinen Formel:

$$HM^2 \qquad (X)$$

worin M^2 die obige Bedeutung hat, umsetzt.

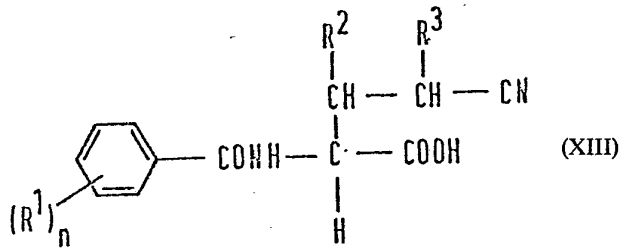
Die Reaktion verläuft stöchiometrisch unter Anwendung der Reaktionsteilnehmer in äquimolaren Mengen. Vorzugsweise wird man aber einen Überschuss einer Base der Formel X, nämlich 1,0 bis 1,5 Mol pro Mol des Oxazolons der Formel IX, verwenden. Für diese Umsetzung kann man ein beliebiges Lösungsmittel verwenden, welches die Umsetzung nicht nachteilig beeinflusst. Geeignete Beispiele sind Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Benzol, Toluol oder Xylol, Äther, wie z.B. Dioxan, Tetrahydrofuran oder Diisopropyläther, und halogenierte Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Dichloräthan oder Chloroform. Die zur Anwendung gelangende Reaktionstemperatur liegt mit Vorteil zwischen 0°C und 100°C, vorzugsweise zwischen 20°C und 50°C. Die Reaktionsdauer liegt im allgemeinen zwischen 2 und 12 Stunden.

Nach beendeter Umsetzung kann man das gewünschte Produkt der Formel XI durch Waschen des Reaktionsgemisches mit Wasser und Abdestillieren des Lösungsmittels erhalten. Nötigenfalls kann man das so entstandene Produkt beispielsweise durch Umkristallisieren oder Chromatographie weiter reinigen.

Die als Ausgangsmaterialien verwendeten Oxazolone der Formel IX können nach der Methode gemäss Journal für Praktische Chemie, (2), *82*, 60 (1910) erhalten werden.

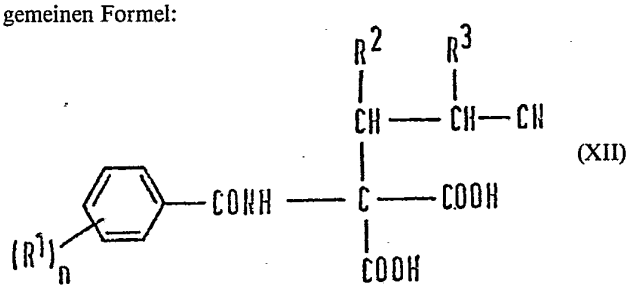
Verfahren 4

Die Aminosäuren der folgenden allgemeinen Formel:



(XIII)

worin R^1, R^2, R^3 und n die obigen Bedeutungen haben, werden dadurch erhalten, dass man eine Verbindung der folgenden allgemeinen Formel:



(XII)

worin R^1, R^2, R^3 und n die obigen Bedeutungen haben, erhitzt.

Für diese Umsetzung kann man eine Verbindung der Formel XII in einem beliebigen Lösungsmittel, welches die Umsetzung nicht nachteilig beeinflusst, beispielsweise in einem Äther, wie z.B. Diisopropyläther, Tetrahydrofuran oder Dioxan, oder einem Kohlenwasserstoff, wie z.B. Benzol, Toluol oder Xylol, lösen. Zum glatteren Verlauf der Umsetzung kann man eine organische Base, z.B. Triäthylamin, Dimethylanilin oder Pyridin, hinzugeben. Andererseits kann man die Ausgangsmaterialien der Formel XII auch direkt in einer tertiären organischen Base, z.B. Pyridin oder Diäthylanilin, lösen und die so entstandene Lösung erhitzen, wobei man ebenfalls zum gewünschten Produkt der Formel XIII gelangt. Die für diese Umsetzung zur Anwendung gelangende Temperatur liegt mit Vorteil zwischen 30°C und 100°C und vorzugsweise zwischen 50°C und 100°C. Die Reaktionsdauer liegt im allgemeinen zwischen 1 und 8 Stunden.

Nach beendeter Umsetzung kann man das gewünschte Produkt der Formel XIII in an sich bekannter Weise gewinnen. So kann man in jenen Fällen, in denen die Umsetzung in Gegenwart einer organischen Base stattfindet, das Produkt der Formel XIII dadurch gewinnen, dass man das Reaktionsgemisch mit Wasser wäscht und das organische Lösungsmittel abdestilliert. Nötigenfalls kann man dieses Produkt beispielsweise durch Umkristallisierung, Vakuumdestillation oder Chromatographie weiter reinigen.

Die Säuren der Formel XIII lassen sich auch verestern, wobei man zu Verbindungen der obigen Formel IV gelangt, worin R^4 Wasserstoff bedeutet. Dies kann durch Umsetzung mit einem geeigneten Veresterungsmittel geschehen. Diese Veresterung kann in an sich bekannter Weise durchgeführt werden. Vorzugsweise arbeitet man aber in einem Amidlösungsmittel, z.B. N,N-Dimethylformamid, N,N-Diäthylacetamid oder Hexamethylphosphorsäuretriamid. Als Veresterungsmittel kommen beliebige Alkylhalogenide in Frage, wobei man die Umsetzung

in diesem Falle mit Vorteil in Gegenwart einer Base, beispielsweise eines Alkalimetallcarbonats, wie Kaliumcarbonat oder Natriumcarbonat, durchführt.

Die Verbindungen der Formel I, welche Carbonsäuren oder Hydroxamsäuren sind, können in an sich bekannter Weise in ein Salz übergeführt werden, wobei man deren pharmazeutisch zulässige Salze gewinnt. Als Salze kommen solche mit anorganischen Metallen, wie z.B. Lithium-, Natrium-, Kalium-, Calcium-, Magnesium- oder Aluminiumsalze, und Ammonium- oder substituierte Ammoniumsalze, wie z.B. Cyclohexylammonium-, Diisopropylammonium- oder Triäthylammoniumsalze, in Frage. Im allgemeinen wird man den Natrium-, Kalium- und Calciumsalzen den Vorzug geben.

Die erfindungsgemässen Verbindungen bilden optische Isomere. Selbstverständlich fallen die einzelnen optischen Isomeren ebenfalls unter die vorliegende Erfindung, ebenso wie die racemischen Mischungen von Isomeren. Dabei sei hervorgehoben, dass bei einem Paar der optischen Isomeren der erfindungsgemässen Verbindungen eines der einzelnen Isomeren möglicherweise wesentlich stärkere pharmazeutische Wirkungen ausübt als das andere Isomere oder die racemische Mischung. Es handelt sich dabei um eine an sich für andere pharmazeutische Verbindungen, welche optische Isomeren bilden, bekannte Erscheinung.

Im allgemeinen lassen sich racemische Mischungen der erfindungsgemässen Verbindungen, wie sie nach den obigen Methoden erhalten werden, ohne Aufspaltung in die einzelnen Isomeren verwenden. Gewünschtenfalls kann man die einzelnen optischen Isomeren unter Anwendung an sich bekannter Techniken erhalten, indem man das racemische Gemisch entweder aufspaltet oder sich der stereospezifischen Synthese unter Verwendung von Ausgangsmaterialien oder Zwischenprodukten bekannter Konfiguration bedient. Arbeitet man beispielsweise nach der obigen Methode 1, so wird das N-Benzyloxycarbonyl--L-prolylderivat des Ausgangsmaterials der Formel II hergestellt, die beiden Diastereomeren dieses Derivates werden getrennt und die Prolylschutzgruppen beseitigt, wobei die beiden Isomeren der Verbindung der Formel II erhalten werden, die man hierauf mit einem Säurehalogenid der Formel III in einer stereospezifischen Synthese der optischen Isomeren des Endproduktes der Formel IV umsetzen kann.

Es wurde gefunden, dass die erfindungsgemässen Verbindungen in der Medizin verwendet werden können, da sie wertvolle immunoregulatorische und Antitumor-Eigenschaften besitzen. Diese Eigenschaften werden durch folgende Versuche veranschaulicht.

1. Wiederherstellung der Immunantwort bei Tumor-infizierten Mäusen

Weibliche, mit Zellen des Ehrlich-Karzinomes eingeimpfte Mäuse des ICR/Jcl-Stammes wurden zur Prüfung der Wirkung, welche die erfindungsgemässen Verbindungen auf die durch Verabreichung des Bacillus von Calmette und Guérin (BCG) in die Fussballen der Pfote hervorgerufene verspätete allergische Reaktion entfalten, verwendet.

Jede Testgruppe bestand aus 10 Mäusen. Jede Maus wurde subkutan mit 500 μg BCG geimpft. Am 9. Tag vor der Impfung wurden 2×10^6 Zellen des Ehrlich-Karzinomes jeder Maus subkutan verabreicht. Am 4. und am 2. Tag vor der Impfung wurde die zu prüfende Verbindung in einer Dosis von 1 bzw. 10 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal verabreicht. Am 14. Tag nach der Impfung wurde eine Auffrischimpfung intradermal in die Fussballen einer der Hinterpfoten vorgenommen, und 24 Stunden danach wurde die Schwellung der Fussballen durch Vergleich mit denen der mit BCG nicht behandelten Pfote bestimmt. Kontrollgruppen aus normalen und mit dem Ehrlich-Karzinom infizierten Tieren wurden gleicherweise mit BCG behandelt, und die Schwellung der Fussballen wurde bestimmt.

Die Wiederherstellung der Immunantwort bei den tumor-infizierten Tieren, welche mit der zu prüfenden Verbindung behandelt wurden, wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Wiederherstellung der Immunantwort } (\%) = 100-[(A/B) \times 100]$$

wobei A = (Schwellung der Fussballen der aus normalen Tieren bestehenden Kontrollgruppe — Schwellung der Fussballen der tumor-infizierten und mit der zu prüfenden Verbindung behandelten Tiere)

B = (Schwellung der Fussballen der aus normalen Tieren bestehenden Kontrollgruppe — Schwellung der Fussballen der aus tumor-infizierten Tieren bestehenden Kontrollgruppe)

Die Ergebnisse des Versuches befinden sich in der Tabelle 1. Sie zeigen die Wirksamkeit der erfindungsgemässen Verbindungen bei der Wiederherstellung der Immunantwort von tumor-infizierten Mäusen.

TABELLE 1

Verbindung	Wiederherstellung der Immunantwort (%) 1 mg/kg	10 mg/kg
N-(p-Chlorbenzoyl)-2--(2-cyanoäthyl)-alanin	67	99
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2--cyanoäthyl)-alanin-methylester	45	121
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-phenylglycin-methylester	71	114
N-(4-Chlor-2-hydroxy-benzoyl)--2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methyl ester	60,9	58,6
2-(p-Chlorbenzoylamino)-2--(2-cyanoäthyl)-malonsäure--dinatriumsalz-dihydrat	42,7	92,8

Der beschriebene Versuch wurde mit der Verbindung N-(p--Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester wiederholt, jedoch unter peroraler anstelle der intraperitonealen Verabreichung. Die Wiederherstellung der Immunantwort betrug 81% bei einer Dosis von 1 mg/kg, und 116% bei einer Dosis von 10 mg/kg. Diese Ergebnisse zeigen die Wirksamkeit der Verbindung sowohl bei peroraler als auch bei intraperitonealer Verabreichung.

2. Antitumorwirkung auf den festen Tumor Sarkom 37 bei der Maus

2×10^6 Zellen des Sarkoms 37 werden 7 Wochen alten weiblichen Mäusen des ICR/Jcl-Stammes in die Achselgegend verabreicht. Die in Tabelle 2 angeführten Verbindungen werden in der angegebenen Dosis (in mg/kg Körpergewicht/Tag) einmal pro Tag vom ersten bis zum 14. und vom 7. bis zum 10. auf die Verabreichung folgenden Tag intraperitoneal verabreicht. Wie die erfindungsgemässen Verbindungen werden auch zwei Referenzsubstanzen verabfolgt, von welchen immunoregulatorische und Antitumor-Eigenschaften berichtet worden sind, nämlich Levamisol, d.h. das Laevoisomere von Tetramisol, und Tiloron. Diese Verbindungen wurden nur in den angegebenen Dosen verabreicht, weil höhere Dosen bei den Tieren Symptome einer akuten Intoxikation hervorriefen. Zur Kontrolle wurde eine Gruppe von unbehandelten, aber mit dem Sarkom 37 infizierten Tieren verwendet.

Am 21. Tag nach der Infizierung wurde der Durchmesser

des Tumors gemessen und mit jenem bei der Kontrollgruppe verglichen, um die prozentuale Hemmung des Tumorwachstums abzuschätzen.

Die Ergebnisse des Versuches befinden sich in der Tabelle 2.

TABELLE 2

Verbindung	Dosis	Hemmung des Tumorwachstums (%) am 21. Tag
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	1	8
	3	26
	10	35
	30	39
	100	33
N-(o-Acetoxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	1	32
N-(o-Hydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	1	38
N-(3,4-Dihydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	10	55
N-(3-Fluor-3-methylbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	1	27
	10	41
Dinatrium-2-(p-chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonat-dihydrat	10	27
Dinatrium-2-(p-methylbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonat-monohydrat	10	26
N-(2-Amino-4-chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	10	26
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-methionin-methylester	10	47
Referenzsubstanzen		
Levamisol	3	0
Tiloron	30	—5

3. Antitumorwirkung auf den syngenetischen Tumor MM-46

Sieben Wochen alten Mäusen des C3H/He-Stammes wurden 2 × 10^6 Zellen des Zitzentumors der Maus subkutan in die Achselgegend verabreicht und die in Tabelle 3 angeführten Verbindungen wurden in der angegebenen Dosis (in mg/kg Körpergewicht/Tag) einmal pro Tag vom 3. bis zum 10. auf die Verabreichung folgenden Tag intraperitoneal verabfolgt. Am 30. Tag nach der Verabreichung wurde der Durchmesser des Tumors gemessen und mit jenem bei der aus mit der Verbindung nicht behandelten Tieren bestehenden Kontrollgruppe verglichen. Am 45. Tag nach der Verabreichung wurde in jeder Gruppe die Anzahl Tiere aufgeschrieben, bei welchen eine vollständige Rückbildung festgestellt wurde, und deren prozentuale Bedeutung in der jeweiligen Gruppe wurde berechnet.

Die Ergebnisse befinden sich in der Tabelle 3.

TABELLE 3

Verbindung	Dosis	Hemmung des Tumorwachstums (%) am 30. Tag	Vollständige Rückbildung des Tumors am 45. Tag (und deren %-Wert In der Gruppe)
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	3	—3	0/5 (0%)
	10	30	2/5 (40%)
	30	36	2/5 (40%)
	100	39	2/5 (40%)
Referenzsubstanzen			
Levamisol	3	14	1/5 (20%)
Tiloron	30	9	1/5 (20%)

4. Akuter Toxizitätstest

Eine der erfindungsgemässen Verbindungen, nämlich der N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, wurde intraperitoneal Mäusen des ddy-Stammes in Dosierungsmengen von 100 und 300 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Eine Wochen nach erfolgter Verabreichung war keine der Mäuse gestorben, wobei überdies bezüglich der Körpergewichtszunahme keine Verlangsamung stattfand.

Die Resultate dieser pharmakologischen Teste zeigen eindeutig, dass die erfindungsgemässen Verbindungen wertvolle Mittel zur Immunregulation bei Krebs, bakteriellen Infektionen und Autoimmunkrankheiten und ausgezeichnete Antitumormittel sind. Sie eignen sich in der Medizin bei normaler Verabreichung in parenteraler, enteraler oder oraler Weise bei Anwendung üblicher Formulierungsarten, beispielsweise durch subkutane, intravenöse oder intramuskuläre Injektion, als Suppositorien oder oral in Form von Tabletten, Kapseln, Pulvern, Granulaten und Sirupen.

Die erfindungsgemäss erhältlichen pharmazeutischen Mittel bzw. Präparate enthalten somit mindestens eine Verbindung der obigen Formel I oder mindestens eines der pharmazeutisch zulässigen Salze dieser Verbindungen mit mindestens einem pharmazeutisch zulässigen Trägermittel oder Verdünnungsmittel. Das verwendete Trägermittel bzw. Verdünnungsmittel kann flüssig oder fest sein, wobei die Wahl desselben vom beabsichtigten Formulierungstypus und von der Verabreichungsmethode abhängt. Die Mittel bzw. Präparate können auch übliche pharmazeutische Hilfs- und Zusatzstoffe enthalten, welche sich für die zur Anwendung gelangende Formulierungsart eignen.

Die Dosierungsmenge der erfindungsgemässen Verbindungen hängt vom Zustand des Patienten, von der Art der Verabreichung und von der Häufigkeit der Verabreichung ab. Bei Erwachsenen wird die Dosierungsmenge im allgemeinen täglich 5 bis 300 mg betragen, wobei diese in einer einzelnen Dosierung oder in aufgeteilten Dosierungen verabreicht werden kann. Werden die erfindungsgemässen pharmazeutischen Mittel bzw. Präparate in Einheitsdosierungsformen verabreicht, so kann jede der Dosierungseinheiten zweckmässig 5 bis 50 mg Wirksubstanz enthalten.

Die Herstellung der erfindungsgemässen Verbindungen und Mittel bzw. Präparate wird durch die nachstehenden Beispiele erläutert, ohne dass diesen Beispielen einschränkender Charakter zukommen würde. Das im Anschluss an die Beispiele wiedergegebene «Präparat» gibt die Synthese eines der Ausgangsmaterialien der obigen allgemeinen Formel IX wieder.

Beispiel 1

N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester und N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin

7,8 g 2-(2-Cyanoäthyl)-alanin-methylester wurden in 100 ml

Dichlormethan gelöst und diese Lösung bei 5°C mit 8,7 g p-Chlorbenzoylchlorid tropfenweise versetzt, worauf man bei der gleichen Temperatur 6,0 g Triäthylamin hinzugab. Dann wurde das Reaktionsgemisch während 1 Stunde bei 0 bis 5°C gerührt und anschliessend zweimal mit jeweils 100 ml Wasser gewaschen. Die organische Schicht wurde abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Der entstandene Rückstand wurde durch Säulenchromatographie über Kieselgel (Eluiermittel: eine Mischung von Benzol und Äthylacetat im Mischungsverhältnis von 9:1) gereinigt und aus Äthylacetat umkristallisiert. Auf diese Weise erhielt man 12,4 g des gewünschten Methylesters in Form von farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 91 bis 92°C.

Elementaranalyse für $C_{14}H_{15}O_3N_2Cl$:

Berechnet:	C 57,05	H 5,13	N 9,50	Cl 12,03%
Gefunden:	C 56,81	H 5,11	N 9,20	Cl 12,06%

29,4 g N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester wurden in 100 ml Methanol gelöst, diese Lösung mit 150 ml einer n-Natriumhydroxydlösung bei 5°C versetzt und das Gemisch während 3 Stunden bei 0 bis 5°C gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit 100 ml Wasser verdünnt und mit 300 ml Äthylacetat gewaschen. Die wässrige Schicht wurde abgetrennt, durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure bei 5°C auf einen pH-Wert von 2,0 eingestellt und mit 300 ml Äthylacetat extrahiert. Der Extrakt wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Der entstandene Rückstand wurde aus Diäthyläther umkristallisiert, wobei man 21,6 g der gewünschten Aminosäure in Form eines farblosen Pulvers vom Schmelzpunkt 82 bis 85°C erhielt.

Elementaranalyse für $C_{13}H_{13}O_3N_2Cl$:

Berechnet:	C 55,62	H 4,67	N 9,98	Cl 12,63%
Gefunden:	C 55,57	H 4,85	N 9,57	Cl 12,34%

Die folgenden Verbindungen liessen sich bei Anwendung der im obigen Beispiel veranschaulichten Methode herstellen:

N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-phenylglycin-methylester, Smp.: 127-128°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-benzoylalanin-methylester, Smp.: 127-128°C
2-(p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-(2-cyanoäthyl)-buttersäure--methylester, Smp.: 168-169°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-benzoylaminomalonsäure-diäthylester, Smp.: 61-62°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-benzoylphenylglycin-äthylester, Smp.: 71-72°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-chlorbenzoyl)-alanin-hexadecylester, Smp.: 83-84°C
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-aminomalonsäure--diäthylester, Smp.: 82-83°C
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-serin-methylester, Smp.: 117-118°C
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-leucin-methylester, Smp.: 48-51°C
N-(m-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, n_D^{25} = 1,5365
N-(m-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin, Smp.: 86-89°C
N-(o-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 73-74°C
N-(o-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin, Smp.: 100-102°C (Zers.)
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(2,4-dichlorbenzoyl)-alanin-methylester, n_D^{25} = 1,5415
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(2,4-dichlorbenzoyl)-alanin, Smp.: 151-153°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-fluorbenzoyl)-alanin-methylester, Smp.: 111-112°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-fluorbenzoyl)-alanin, Smp.: 85-88°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-brombenzoyl)-alanin-methylester, Smp.: 108-109°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-brombenzoyl)-alanin, Smp.: 87-89°C
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-glycin-methylester, Smp.: 110-111°C
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-glycin, Smp.: 152-154°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-toluoyl)-alanin-methylester, Smp.: 111-112°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-toluoyl)-alanin, Smp.: 84-86°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-jodbenzoyl)-alanin-methylester, Smp.: 114-115°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(p-jodbenzoyl)-alanin, Smp.: 87-89°C
2-(2-Cyanoäthyl)-N-(pentafluorbenzoyl)-alanin-methylester, n_D^{25} = 1,4710

Beispiel 2

N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-phenylglycin-methylester

Zu 100 ml einer Lösung von 6,0 g N-(p-Chlorbenzoyl)-phenylglycin-methylester in Dichlormethan gab man 1,6 g Acrylonitril und 3,6 g 1,8-Diazabicyclo-[5,4,0]-7-undecen hinzu, worauf man das Gemisch während 16 Stunden bei Zimmertemperatur rührte. Hierauf wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der entstandene Rückstand mit 100 ml Äthyläther versetzt. Das Gemisch wurde zweimal mit jeweils 100 ml Wasser gewaschen und die organische Schicht abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand aus Diäthyläther umkristallisiert, wobei man 5,8 g des gewünschten Produktes in Form eines farblosen Pulvers vom Schmelzpunkt 127 bis 128°C erhielt.

Elementaranalyse für $C_{19}H_{17}O_3N_2Cl$:

Berechnet:	C 63,95	H 4,80	N 7,85	Cl 9,94%
Gefunden:	C 64,04	H 4,85	N 7,90	Cl 9,76%

Die folgenden Verbindungen wurden bei Anwendung der im vorliegenden Beispiel veranschaulichten Methode erhalten:

2-(2-Cyanoäthyl)-N-benzoylphenylglycin-äthylester, Smp.: 71-72°C
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-aminomalonsäure--diäthylester, Smp.: 82-83°C
N-Benzoyl-2-(2-cyanopropyl)-phenylglycin-äthylester, Smp.: 84-85°C

Beispiel 3

4-Cyano-2-(N-p-chlorbenzamido)-2-methylbutyrylamid

5 ml einer Lösung von 2,0 g 2-(p-Chlorphenyl)-4-(2-cyanoäthyl)-4-methyl-5-oxazolon in Tetrahydrofuran wurden einem Gemisch von 9,5 ml einer 28%igen wässrigen Ammoniaklösung und 5 ml Tetrahydrofuran bei 5°C hinzugegeben, worauf man während 1 Stunde bei 0 bis 5°C rührte. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit 50 ml Äthylacetat extrahiert und die organische Schicht abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der entstandene Rückstand aus Diäthyläther umkristallisiert, wobei man 1,8 g des gewünschten Produktes in Form eines farblosen Pulvers vom Schmelzpunkt 118 bis 120°C erhielt.

Elementaranalyse für $C_{13}H_{14}O_2N_3Cl$:

Berechnet:	C 55,82	H 5,04	N 15,02	Cl 12,67%
Gefunden:	C 55,76	H 5,27	N 14,37	Cl 12,41%

Die folgenden Verbindungen liessen sich bei Anwendung der im obigen Beispiel geoffenbarten Methode herstellen:

2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methyl-(N-2-carbamoyl-äthyl)-butyrylamid, Smp.: 138-140°C
2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methyl-(N-2-chloräthyl)--butyrylamid, Smp.: 172-174°C

2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methylbutyryl-hydroxyamid, Smp.: 80-81°C
2-(N-p-Chlorbenzamido)-4-cyano-2-methyl-(N-dimethyl)-butyrylamid, Smp.: 133-134°C

Beispiel 4

N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-glycin und N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-glycin-methylester

20 ml einer Lösung von 3,2 g N-(p-Chlorbenzoyl-2-(2-cyanoäthyl)-aminomalonsäure in Pyridin wurden während 1 Stunde unter Rückfluss zum Sieden erhitzt und hierauf das Lösungsmittel abdestilliert. Der so entstandene Rückstand wurde mit 50 ml Wasser und 50 ml Äthylacetat versetzt, das Gemisch durch Zugabe von 3n-Salzsäure zum pH-Wert von 2 angesäuert und die organische Schicht abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der entstande Rückstand aus Äthylacetat umkristallisiert, wobei man 2,5 g der gewünschten Aminosäure in Form von farblosen Körnern vom Schmelzpunkt 152 bis 154°C erhielt.

Elementaranalyse für $C_{12}H_{11}O_3N_2Cl$:

Berechnet:	C 54,05	H 4,16	N 10,50	Cl 13,29%
Gefunden:	C 53,91	H 4,25	N 10,29	Cl 13,09%

1,6 g Methyljodid und 1,1 g Kaliumcarbonat wurden zu 5 ml einer Lösung von 1,5 g der so erhaltenen Säure in Dimethylformamid hinzugegeben. Nach 16stündigem Rühren bei Zimmertemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit 50 ml Äthylacetat verdünnt und dreimal mit jeweils 50 ml Wasser gewaschen. Die organische Schicht wurde abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der entstandene Rückstand aus Diäthyläther umkristallisiert, wobei man 1,3 g des gewünschten Methylesters als farbloses Pulver vom Schmelzpunkt 110 bis 111°C erhielt.

Elementaranalyse für $C_{13}H_{13}O_3N_2Cl$:

Berechnet:	C 55,62	H 4,67	N 9,98	Cl 12,63%
Gefunden:	C 55,78	H 4,69	N 10,01	Cl 12,57%

Beispiel 5

N-(3,4-Dihydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester

1,56 g 2-(2-Cyanoäthyl)-alanin-methylester und 1,4 ml Triäthylamin wurden einer Lösung von rohem 3,4-Diacetoxybenzoylchlorid (hergestellt aus 1,96 g 3,4-Diacetoxybenzoesäure und 2,08 g Phosphorpentachlorid) in 30 ml Dichlormethan bei 5°C hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde während 1 Stunde bei 0 bis 5°C gerührt und dann mit 30 ml Wasser gewaschen. Die organische Schicht wurde abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Der entstandene Rückstand wurde in 10 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 8,3 ml 28%iger wässriger Ammoniaklösung versetzt und dann während 23 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Das Gemisch wurde hieauf auf 5°C gekühlt, durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure auf einen pH-Wert von 2,0 eingestellt, mit 50 ml Wasser verdünnt und zweimal mit jeweils 50 ml Dichlormethan extrahiert. Der organische Extrakt wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel abdestilliert und der entstandene Rückstand durch Chromatographie über Kieselgel (Eluiermittel: eine Mischung von Cyclohexan und Äthylacetat im Mischungsverhältnis von 2:1) gereinigt, wobei man 1,60 g des gewünschten Produktes als farbloses, glasiges Material erhielt.

Elementaranalyse für $C_{14}H_{16}N_2O_5$:

Berechnet:	C 57,53	H 5,52	N 9,58%
Gefunden:	C 57,76	H 5,58	N 9,09%

Die folgenden Verbindungen liessen sich bei Anwendung der in diesem Beispiel beschriebenen Methode herstellen:

N-(p-Acetoxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 168-170°C
N-(p-Hydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 106-109°C
N-(p-Methoxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 112-114°C
N-(p-Nitrobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 96-98°C
N-(p-Cyanobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 115-117°C
N-(o-Acetoxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 110-112°C
N-(o-Hydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, $n_D^{25} = 1{,}5377$
N-(p-Methoxycarbonylbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 120-121°C
N-[p-(2,2,2-trichloräthoxycarbonyl)-aminobenzoyl]-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 202-204°C
N-(p-Aminobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 125-126°C
N-(2-Acetoxy-4-chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 104-106°C
N-(4-Chlor-2hydroxybenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 118-119°C
N-(3-Fluor-4-methylbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 118-119°C
N-(2-Mercaptobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 90-93°C
N-(2-Amino-4-chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, Smp.: 115-116°C
N-(4-Chlor-3-nitrobenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester, $n_D^{24} = 1{,}5575$
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-methionin-methylester, Smp.: 79-80°C
N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-phenylalanin-methylester, $n_D^{25} = 1{,}5630$

Beispiel 6

(a) *Dihydrat des Dinatriumsalzes der 2-(p-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure und*
(b) *2-(p-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure*

Eine 1n-Natriumhydroxydlösung (80 ml) wurde tropfenweise zu einer Lösung von 7,3 g N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-aminomalonsäurediäthylester in Methanol (60 ml) bei 0 bis 5°C hinzugegeben und das entstandene Gemisch während 16 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck auf ein Volumen von 80 ml eingeengt und das Konzentrat mit 60 ml Äthanol versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit 50 ml Äthanol gewaschen und im Vakuum während 16 Stunden getrocknet, wobei man 6,0 g des gewünschten Dinatriumsalzes (a) als farbloses Pulver vom Schmelzpunkt 254 bis 255°C (unter Zersetzung) erhielt.

Elementaranalyse für $C_{13}H_9N_2O_5ClNa_2 \cdot 2H_2O$:

Berechnet:	C 39,97	H 3,35	N 7,19	Cl 9,07%
Gefunden:	C 40,43	H 3,43	N 7,14	Cl 9,21%

50 ml Äthylacetat wurden einer Lösung von 4,0 g des Dihydrats des Dinatriumsalzes der 2-(p-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure in 50 ml Wasser hinzugegeben und die entstandene Lösung durch Zugabe von 1n-Salzsäure bei 0 bis 5°C auf einen pH-Wert von 2,0 eingestellt. Die organische Schicht wurde abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der entstandene Rückstand aus Diäthyläther umkristallisiert, wobei man 3,2 g der gewünschten Säure (b) als farbloses Pulver vom Schmelzpunkt 103 bis 105°C (unter Zersetzung) erhielt.

Elementaranalyse für $C_{13}H_{11}N_2O_5Cl$:
Berechnet: C 50,26 H 3,57 N 9,02 Cl 11,41%
Gefunden: C 49,84 H 3,64 N 9,03 Cl 11,68%

Die folgenden Verbindungen liessen sich herstellen, wenn man die im obigen Beispiel zur Anwendung gelangende Methode einsetzte:
Dinatrium-2-(o-chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonat-monohydrat, Smp.: 261-262°C (Zers.)
Dinatrium-2-(p-methylbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonat-monohydrat, Smp.: 263-264°C (Zers.)
2-(o-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure, Smp.: 108-111°C (Zers.)

Beispiel 7

Injektionslösung

10 mg des Dihydrats des Dinatriumsalzes der 2-(p-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure wurden in 5 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst und diese Lösung durch Erhitzen sterilisiert. Auf diese Weise erhielt man eine Injektionslösung.

Beispiel 8

Injektionslösung

10 mg N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester wurden in 0,3 ml N,N-Dimethylacetamid gelöst und diese Lösung mit 4,7 ml einer physiologischen Kochsalzlösung versetzt. Die so entstandene Lösung wurde durch Erhitzen sterilisiert, wobei man zu einer Injektionslösung gelangte.

Beispiel 9

Kapseln für die orale Verabreichung

N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester	50 mg
Lactose	100 mg
Maisstärke	148,5 mg
Magnesiumstearat	1,5 mg
Total	300 mg

Die obigen Bestandteile wurden in pulvriger Form miteinander vermischt und durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 0,6 mm hindurchgeführt. 300 mg dieses Pulvers wurden in eine Gelatinekapsel Nr. 3 eingebracht, wobei man ein in Kapselform vorliegendes Präparat erhielt.

Beispiel 10

Kapseln für die orale Verabreichung

Dihydrat des Dinatriumsalzes der 2-(p-Chlorbenzoylamino)-2-(2-cyanoäthyl)-malonsäure	50 mg
Lactose	100 mg
Maisstärke	148,5 mg
Magnesiumstearat	1,5 mg
Total	300 mg

Die obigen Bestandteile wurden in pulveriger Form miteinander vermischt und durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 0,6 mm hindurchgeführt. 300 mg dieses Pulvers wurden in eine Kapsel aus Gelatine Nr. 3 gefüllt, wobei man ein Präparat in Kapselform erhielt.

Präparat

2-(p-Chlorphenyl)-4-(2-cyanoäthyl)-4-methyl-5-oxazolon

2,8 g N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin und 2,0 g Essigsäureanhydrid wurden in 30 ml Benzol gelöst und die Lösung während 1 Stunde unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Dann wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der entstandene Rückstand aus Diisopropyläther umkristallisiert. Auf diese Weise erhielt man 2,1 g des gewünschten Produktes in Form eines farblosen Pulvers vom Schmelzpunkt 97 bis 98°C.

Elementaranalyse für $C_{13}H_{11}O_2N_2Cl$:
Berechnet: C 59,44 H 4,22 N 10,66 Cl 13,50%
Gefunden: C 59,58 H 4,24 N 10,70 Cl 13,40%

Beispiel 11

Stereospezifische Synthese des N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylesters

(a) *N-(N-Benzyloxycarbonyl-L-propyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester — Isomere (i) und (ii)*

Zu einer Lösung von rohem N-Benzyloxycarbonyl-L-prolylchlorid in Dichlormethan (100 ml), erhalten aus N-Benzyloxycarbonyl-L-prolin (10,0 g) und Phosphorpentachlorid (8,4 g), wurden bei 5°C 2-(2-Cyanoäthyl)-alanin-methylester (6,2 g) und Triäthylamin (5,6 ml) hinzugegeben und das entstandene Gemisch während 1 Stunde bei 0 bis 5°C gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit 100 ml Wasser gewaschen und die organische Schicht abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand durch Lobar-Säulenchromatographie über Kieselgel (Fliessgeschwindigkeit 24 ml/Minute; Eluiermittel: Mischung von Cyclohexan, Äthylacetat und Triäthylamin im Mischungsverhältnis von 10:10:1) gereinigt, um die beiden Diastereomeren zu isolieren. Die beiden Isomeren wurden getrennt aus Diäthyläther umkristallisiert, wobei man 3,8 g bzw. 4,1 g dieser Verbindungen in Form von farblosen Pulvern erhielt.

Isomer (i):
Schmelzpunkt: 98 bis 99°C
$[\alpha]_D^{25}$ —67,1° (C = 1, MeOH)

Elementaranalyse für $C_{20}H_{25}N_3O_5$:
Berechnet: C 62,00 H 6,50 N 10,85%
Gefunden: C 62,12 H 6,47 N 10,89%

Isomer (ii):
Schmelzpunkt: 108 bis 109°C
$[\alpha]_D^{25}$ —36,6° (C = 1, MeOH)

Elementaranalyse:
Gefunden: C 62,14 H 6,47 N 10,88%

(b) *2-(2-Cyanoäthyl)-alanin-methylester — Isomer (i) und (ii)*

Zu einer Lösung des Isomers (i) des N-(N-Benzyloxycarbonyl-L-prolyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylesters (3,0 g) in Dichlormethan (30 ml) wurden 1,7 g Phosphorpentachlorid hinzugegeben und das entstandene Gemisch während 30 Minuten unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Dann wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in 40 ml Dichlormethan gelöst. Die Lösung wurde in einem Kühlbad auf —40°C gekühlt und dann mit 5 ml Propanol und 10 ml Triäthylamin versetzt. Das Kühlbad wurde weggenommen und das Gemisch während 30 Minuten und hierauf während weiteren $1^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in 30 ml Methanol gelöst. Die Methanollösung wurde auf 5°C gekühlt und mit 30 ml einer 0,5n-Salzsäurelösung versetzt. Dieses Gemisch wurde während $1^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Dann wurden 50 ml Wasser hinzugegeben und das Gemisch mit 100 ml Diäthyläther gewaschen. Die wässrige Schicht wurde mit Hilfe einer Natriumbicarbonatlösung auf einen pH-Wert von ungefähr 8

eingestellt und dreimal mit jeweils 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie über Kieselgel unter Verwendung von Äthylacetat als Eluiermittel gereinigt, wobei man 0,91 g des Isomers (i) des gewünschten Produktes als blassgelbe Flüssigkeit erhielt.

Die obigen Massnahmen wurden wiederholt, wobei man aber 3,0 g des Isomers (ii) des Ausgangsmaterials verwendete. Auf diese Weise erhielt man 0,93 g des Isomers (ii) des gewünschten Produktes als blassgelbe Flüssigkeit.

Isomer (i):
n_D^{25} 1,4485
$[\alpha]_D^{25}$ +19,2° (C = 1, MeOH)

Elementaranalyse für $C_7H_{12}N_2O_2$:
Berechnet: C 53,83 H 7,74 N 17,94%
Gefunden: C 53,85 H 7,86 N 18,10%

Isomer (ii):
n_D^{25} 1,4527
$[\alpha]_D^{25}$ —19,6° (C = 1, MeOH)

Elementaranalyse:
Gefunden: C 54,17 H 7,94 N 17,65%

(c) *N-(p-Chlorbenzoyl)-2-(2-cyanoäthyl)-alanin-methylester Isomere (i) und (ii)*

0,91 g p-Chlorbenzoylchlorid und 0,91 ml Triäthylamin wurden bei 5°C einer Lösung von 0,85 g des Isomers (i) des 2-(2-Cyanoäthyl)-alanin-methylesters in 20 ml Dichlormethan hinzugegeben und das entstandene Gemisch während 2 Stunden bei 0 bis 5°C gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit 20 ml Wasser gewaschen und die organische Schicht über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand durch Säulenchromatographie mit Hilfe einer Laborsäule über Kieselgel gereinigt (Eluiermittel: Mischung von Cyclohexan und Äthylacetat im Mischungsverhältnis von 1:1; Fliessgeschwindigkeit 12 ml/Minute), wobei man 1,13 g des Isomers (i) des gewünschten Prduktes als farbloses Pulver erhielt.

Die obige Arbeitsweise wurde wiederholt, wobei man aber 0,85 g des Isomers (ii) des Ausgangsmaterials verwendete. Auf diese Weise erhielt man 1,10 g des Isomers (ii) des gewünschten Produktes als farbloses Pulver.

Isomer (i):
Schmelzpunkt: 61 bis 62°C
$[\alpha]_D^{25}$ —19,0° (C = 1, MeOH)

Elementaranalyse für $C_{14}H_{15}N_2O_3Cl$:
Berechnet: C 57,05 H 5,13 N 9,50 Cl 12,03%
Gefunden: C 57,48 H 5,34 N 9,45 Cl 12,02%

Isomer (ii):
Schmelzpunkt: 64 bis 65°C
$[\alpha]_D^{25}$ +19,9° (C = 1, MeOH)

Elementaranalyse:
Gefunden: C 57,20 H 5,03 N 9,38 Cl 11,90%