

mc/

Caso 6267.



270384

270384

P A T E N T E D E I N V E N C I O N

a favor de

MERCK & CO., INC., de nacionalidad norteamericana, domiciliada en RAHWAY (New Jersey, E.U.) 126 East Lincoln Avenue,

por:

" Procedimiento para la preparación de aminoácidos "

-----:oOo:-----

M e m o r i a D e s c r i p t i v a

270384



Esta invención se refiere a nuevos aminoácidos. Más específicamente, esta invención se refiere a histidinas α -alquil y sus ésteres bajo alquil y a las sales no-tóxicas de los mismos. Tales compuestos pueden ilustrarse por medio de la fórmula 1 de las adjuntas hojas de fórmulas, en la que R_1 es bajo alquil y R_2 puede ser hidrógeno o bajo alquil.

El conocimiento de que la histamina o una sustancia parecida a la histamina es liberada de los tejidos en las reacciones alérgicas ha conducido al desarrollo de compuestos que son antagonísticos a la histamina. Estas drogas, cuando se administran oralmente, subcutáneamente, intraperitonealmente o intravenosamente a un conejillo de indias previenen el choque de la histamina y el bronquiospasmo de la histamina serosolizada. Inhiben adicionalmente las manchas histamínicas en la piel humana y previenen el asma histamínica en el hombre. Algunos de los procesos de la histamina, sin embargo, tales como la estimulación de salivación y secreción gástrica, no son inhibidos por las drogas antihistamínicas.

Se ha encontrado una nueva clase de compuesto antihistamínicamente activo cuyo modo aparente de acción es diferente de aquel conocido hasta ahora. Se ha encontrado que las histidinas α -alquil y sus ésteres son antihistamínicos potentes, aparentemente con un modo diferente de acción que las hasta ahora conocidas. Este modo de acción se cree que es el bloqueo de la formación de histamina por la inhibición de decarboxilasa histidina. Estos compuestos, en sí, son antimetabolitos en lugar de antagonistas, como lo son los antihistamínicos conocidos.



Los compuestos de la invención se preparan según la serie de reacciones representadas esquemáticamente en la Tabla I de las adjuntas hojas de fórmulas, en la que significan:

5 R_1 = Bajo alquil

R_2 = Bajo alquil (en las reivindicaciones significa también H)

Reactivos: (1) Piridina y tolueno en reflujo

10 (2) NaNO_2 , floroglucinol, dimetilformamida

(3) Hidruro de sodio en DMF

(4) Hidrogeno, Niquel Raney, después HCl

(5) Alcanol mas HCl

15 Debiéndose notar: Si se usa $R_2\text{OH}$ en lugar de $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$, el producto de la reacción (3) será el mismo éster indicado como producto de la reacción (5) y no será necesaria la subsiguiente reacción (4).

20 En este método de preparación, un bromuro α -bromoalcanoil se convierte en éster y el α -bromo es reemplazado entonces por un grupo nitro. El éster nitro se condensa entonces con clorometilimidazol y se reduce el grupo nitro. La saponificación del éster produce entonces las histidinas α -alquil. Normalmente, el éster bencil es usado en esta

25 síntesis por que se disocia fácilmente, y esto es lo que se muestra en la Tabla I. Sin embargo, cualquier otro éster alifático puede ser igualmente usado. La naturaleza del grupo esterificante no es importante cuando se desea un ácido

30 libre que no sea el más conveniente respecto a la facilidad

270384



de disociación. Cuando se desea un éster de las histidinas α -alquil, puede ser preparado a partir del ácido libre por reesterificación con un bajo alcanol o puede ser preparado directamente usando el éster nitro apropiado por condensación con el clorometilimidazole. Los compuestos de la invención comprenden α -metil histidina, α -amilhistidina, α -etilhistidina, α -propil histidina, α -butilhistidina y sus respectivos ésteres metil, etil, propil, butil o amil.

Los ésteres del aminoácido se preparan fácilmente a partir de los ácidos libres por esterificación con un bajo alcanol en presencia de una cantidad catalítica de ácido sulfúrico, ácido hidroclicórico, ácido hidrobromico y similares. Más convenientemente, se preparan directamente por síntesis. Los ésteres son esencialmente útiles porque se obtiene mucho mejor absorción del compuesto en el cuerpo y una actividad mucho más prolongada con dosis más pequeñas y menos frecuente. Los ésteres, especialmente, pueden ser usados en la forma de sales no-tóxicas tales como el hidrobromuro, hidroclicoruro, sulfato y similares. Estas sales son solubles al agua y se forman en presencia del éster. Si se desea el amino éster libre, se obtiene por basificación de la sal formada durante la preparación. También puede ser empleada terapéuticamente.

En su uso como antihistamínicos, los compuestos de la invención se usan en las personas en dosis variando de 0.5 a 25.0 gramos por día, generalmente en forma oral. En los animales, las dosis varían de 10 a 350 mg. por kg. de peso. Preferiblemente, son usados en el promedio de 2-10 gramos por día, generalmente en dosis frecuentes pequeñas, probablemente no más de un par de horas aparte. Dosis unitarias más o menos frecuentes y más grandes y más pequeñas,



por supuesto, son también posibles. Estos compuestos pueden ser mezclados con cualquiera de los ingredientes convencionales para tabletas. Los compuestos pueden también ser aplicados parenteralmente en vehículos farmacéuticos standard para tal aplicación.

5

Estos compuestos son también útiles como intermediarios en la preparación de compuestos como norepinefrina. Tales compuestos pueden ser preparados por descarboxilación del aminoácido, seguido por hidroxilación del carbono β de la amina resultante. La descarboxilación puede ser llevada a cabo por medio del empleo de un catalizador enzimático (v.gr. histidina decarboxilasa, obtenida de la evaporación del extracto acuoso de carne de cerdo molida o riñón de vaca, o laminillas de sangre molidas, y de otras maneras conocidas). El aminoácido es calentado a 37° C. con la enzima y el fosfato piridoxil co-enzimico en un medio acuoso tamponado a un pH de 6.8, para obtener la amina correspondiente. La hidroxilación del carbono β puede ser obtenida por medio de uno entre diversos métodos. Uno de éstos es una conversión enzimática calentando en un pH 6.8 un medio acuoso tamponado en presencia de rebanadas de hígado de mamíferos. Los productos resultantes se relacionan con norepinefrina del mismo modo que el aminoácido es referido a la dihidroxifenilalanina. Los compuestos de la estructura del tipo norepinefrina son conocidos por tener utilidad como agentes de presión y los compuestos de esta invención son así valiosos intermediarios en la preparación de tales compuestos.

10

15

20

25

30

La invención puede ser ilustrada por los siguientes ejemplos:



EJEMPLO 1 270384

(Fórmula 2)

5 A una mezcla de 42.8 gramos de alcohol bencil,
21.8 gramos de piridina y 225 cc. de tolueno, se añadie-
ron con agitación vigorosa 60 gramos de bromuro propio-
nil α -bromo, a gotas, en un período de 30 minutos conser-
vando mientras tanto la temperatura de la mezcla a 20-25^o
10 C. La mezcla es entonces calentada a reflujo por 4 horas
con buena agitación, La mezcla de reacción se enfría a
15-20^o C. y se añaden 100 ml. de agua. La capa de tolu-
eno se separa y la capa acuosa se extracta con 50 cc. de
tolueno. Las soluciones combinadas se lavan entonces con
15 agua hasta que quedan neutra y se secan en sulfato de so-
dio anhídrido. La solución seca de tolueno se concentra en-
tonces al vacío y el material residual se destila. El ma-
terial tiene un punto de ebullición de 86.89^o y 0.1 mm.
Esto es el bencil- α -bromopropionato.

20 Cuando en el procedimiento anterior, se usan can-
tidades equivalentes de α -bromobutirilbromuro, α -bromo-
valerilbromuro, α -bromocaproilbromuro y α -bromoheptoil-
bromuro en lugar del α -bromopropionilbromuro, se obtienen
los ésteres bencil α -bromo.

25 El correspondiente etil α -bromopropionato y los
ésteres etil de los otros ácidos se obtienen cuando se usa
una cantidad equivalente de alcohol etil en lugar del al-
cohol bencil en el procedimiento anterior.

EJEMPLO 2

30

(Fórmula 3)



A una lechada bien agitada de 37.3 gramos de nitrato de sodio 42 gramos de glucinol anhidrico en 625 ml. de dimetilformamida, se añadieron en un período de 3 a 5 minutos a 25° C., 76 gramos del producto del Ejemplo 1.

5 La mezcla se agita a 25° C. por 18 horas, después se vierte en 1600 ml. de agua fría y 300 ml. de éter con buena agitación. La capa de éter se separa y la capa acuosa se extrae tres veces con 300 ml. de éter. Las capas éter combinadas se lavan cinco veces con 300 ml. de agua y después
10 se secan en sulfato de magnesio. El extracto seco se concentra y el aceite residual se fracciona a través de una columna de relleno. El éster α -nitro obtenido presenta un punto de ebullición de 125-126° C. a 1.5 mm.

15 Similarmente, cuando el correspondiente éster α -bromobutiril, éster α -bromovaleril, α -bromocaproil y éster α -heptoil substituyen en cantidades equivalentes al éster α -nitropropionil, se obtienen los ésteres α -nitro correspondientes.

20 Cuando se usa el éster etil correspondiente de cualquiera de los ácidos bromo anteriores en lugar del éster bencil, en cantidad equivalente, en el anterior procedimiento, se obtienen los ésteres etil α -nitro.

EJEMPLO 3

25

(Fórmula 4)

Una mezcla de 12.8 gramos de hidruro de sodio y 540 cc. de dimetil formamida es agitada vigorosamente por
30 espacio de 30 minutos a 25° C. y después enfriada a 10° C.

270384¹⁸



5 A esta mezcla se añaden 28.8 gramos del éster nitro producido en el Ejemplo 2. La reacción se agita a temperatura ambiente por 5 horas y después se vuelve a enfriar a 5°C. A esta lechada se añade, en un período de 3 a 5 minutos, una solución de 21 gramos de clorometilimidazole en 210 cc. de dimetil formamida. La mezcla de reacción se agita por 18 horas a 25° C. y después se enfría a 5° C. Si bien la temperatura de la mezcla se mantiene por debajo de 20° C., cuando se enfría se añaden 5 cc. de agua fría.

10 La mezcla de reacción es entonces diluída con 3 litros adicionales de agua y el producto es extractado con 3 porciones de éter. Los extractos de éter combinados se lavan entonces cinco veces con un litro de agua con el objeto de eliminar la dimetilformamida y se secan en sulfato de magnesia anhídoro. El extracto secado se concentra hasta que principia la cristalización y después se enfría a 0°. El éster propiónico α -nitro- α -metil- β -4-imidazolil se aísla por filtración, lavado con éter y secado.

15 Cuando en el procedimiento anterior una cantidad equivalente de éster α -nitrobutiril, α -nitrovaleril, α -nitrocaproil o α -nitroheptoil preparado en el Ejemplo 2 es substituído por el propionato α -nitro, se obtiene el correspondiente éster α -alquil- β -imidazolil.

25 Cuando, en el anterior procedimiento, el éster etil α -nitro correspondiente se usa en cantidad equivalente en lugar del éster bencil, se obtiene el correspondiente alcanato etil α -nitro- α -alquil-imidazolil.

30 Similarmente, los otros ésteres bajo alquil de estos alcanatos se obtienen por el Ejemplo 1 con el correspondiente alcohol en lugar de etanol o alcohol bencil,

270384



y siguiendo el procedimiento de los Ejemplos 1 y 2 y después el procedimiento anterior.

EJEMPLO 4

5

(Fórmula 5)

Un recipiente de presión se carga con una mezcla de 5.35 gramos del éster bencil del ácido propionico α -nitro α -metil- β -imidazolil, preparado en el Ejemplo 3, 250 ml. de metanol y una cucharada de níquel Raney. La bomba es purgada con un exceso de hidrógeno y después cerrada y agitada hasta que cesa la absorción de hidrógeno. La mezcla de reacción es entonces filtrada para eliminar el catalizador y el filtrado se acidifica a un pH de 2 con una solución de cloruro de hidrógeno en metanol. La solución se concentra al vacío hasta sequedad conservando la temperatura por debajo de 40° C. El residuo éster α -amino se mezcla entonces con 75 cc. de ácido hidroclicórico concentrado y la mezcla se somete a reflujo por 18 horas. La mezcla se enfría a 25° C. y se extracta cinco veces con 50 ml. de éter. La solución acuosa se concentra en el vacío hasta un volumen de 15 cc. y el pH se ajusta a 5-6 con hidróxido de amoniaco. Al añadirse 300 ml. de acetona a esta solución y dejándola reposar, se separa un precipitado cristalino de la histidina α -metil. Esta es aislada por filtración y lavada con acetona.

Quando el etil y otros ésteres bajo alcanol del ácido propiónico α -nitro- α -metil se usan en cantidad equivalente en lugar del éster bencil, en el procedimiento

30



270384

anterior, los ésteres correspondientes bajo alquil de una metil histidina se obtienen como hidrocioruro después de la evaporación hasta sequedad del filtrado alcohólico de reacción.

5

EJEMPLO 5

(Fórmula 6)

10

Se sigue el procedimiento del Ejemplo 4 usando una cantidad equivalente de propionato bencil- α -nitro- α -etil- β -4-imidazolil preparado en el Ejemplo 3. Similarmente, cuando los ésteres α -propil, α -butil y α -amil correspondientes sustituyen en cantidades equivalentes al éster α -metil, se obtiene la correspondiente histidina α -alquil.

15

20

Cuando el etil y otros ésteres bajo alcanol de los ácidos propiónicos α -nitro α -alquil son usados en lugar del éster bencil, en cantidades equivalentes, como en el Ejemplo 4, se obtienen los correspondientes ésteres bajo alquil de la histidina α -alquil.

EJEMPLO 6

25

(Fórmula 7)

30

300 ml. de etanol absoluto se saturan por medio de cloruro dihidrogenado a 0° y se añaden 7 gramos de monohidrato hidrocioruro α -metil (preparados en el Ejemplo 4). La mezcla de reacción se somete a reflujo por 5 horas

270384



1961

5 y después se deja en reposo un día a temperatura ambiente. El solvente se elimina al vacío y el residuo se disuelve en 30 ml. de etanol. La solución se diluye con 30 ml. de acetato etil anhídrico y el dihidrocloruro del éster étil de histidina α -metil se precipita por la adición lenta de éter anhídrico. El producto se aísla por filtración, se lava con éter y se seca.

10 Cuando el producto del Ejemplo 5 sustituye en cantidades equivalentes a la α -metilhistidina en el procedimiento anterior, se obtiene el éster correspondiente. Similarmente, se obtienen fácilmente los ésteres correspondientes de las histidinas α -propil, α -butil y α -amil.

15 Cuando, en el procedimiento anterior, metanol anhídrico, propanol o butanol sustituyen al etanol, (y el tiempo de reflujo se extiende varias veces en el caso de alcoholes más altos), se obtienen los correspondientes ésteres metil, propil o éster butil.

20 Los productos de este ejemplo son idénticos a los obtenidos en los Ejemplos 4 y 5 cuando se usan los ésteres bajo alcanol en lugar del éster bencil.

Las aminas libres se obtienen de estos hidroclo-
ruros por basificación de su solución acuosa con carbonato de sodio.

25 -----: N O T A :-----

Se reivindica como objeto de esta patente:

1.- Procedimiento para la preparación de aminoácidos y particularmente de histidinas α -alquil y sus ésteres bajo alquil, que consiste en hacer reaccionar un ácido

30

270384



5 α -nitroalcanoico, de cuando menos tres carbonos, con
4-clorometilimidazole poniendo en contacto dicho éster
con un solvente inerte con hidruro de sodio, añadiendo
dicho clorometilimidazole, agitándolo hasta que se com-
plete la reacción, aislando el éster α -nitro- α -imidazo-
le, reduciendo dicho éster nitro imidazolil bajo presión
con hidrógeno y níquel Raney y, si se desea, hidrolizan-
do el éster resultante calentándolo con un ácido mineral
y, si se desea, re-esterificando el ácido carboxílico re-
10 sultante calentándolo con un bajo alcohol en presencia de
un ácido mineral.

2.- Procedimiento para la preparación de aminoáci-
dos.

15 Esta memoria consta de doce páginas escritas por
una sola cara.

BARCELONA, 18 AGO. 1961

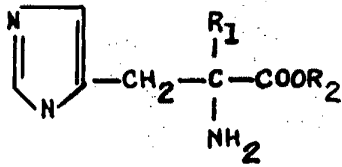
P. A.

[Handwritten signature]

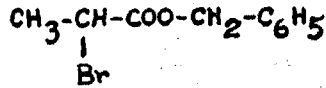
6267

270384

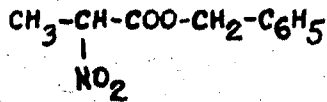
FORMULA 1



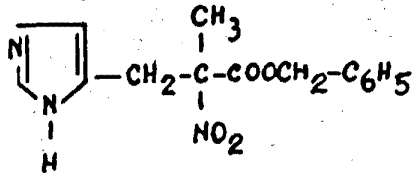
FORMULA 2



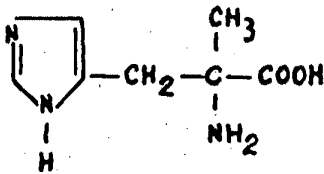
FORMULA 3



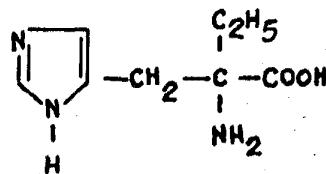
FORMULA 4



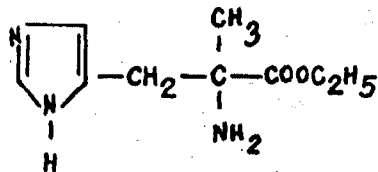
FORMULA 5



FORMULA 6



FORMULA 7



M. J. ...

6267

270384

TABLA I

