

np/

309730

Caso 9314



CERTIFICADO DE ADICIÓN

a favor de

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

por:

"Mejoras introducidas en el objeto de la patente N^o 256.636,
expedida el 16 de Mayo de 1961, por "Procedimiento para
preparar nuevos compuestos de aminoácidos".

====:oOo:====

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

La patente principal se refiere a un procedimiento
para preparar nuevos compuestos de aminoácidos, especialmente



L- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)alanina, partiendo de una cetona.

El presente certificado de adición tiene por objeto
unas mejoras en el objeto de la patente principal, que recaen
especialmente sobre la síntesis de α -levialquil-3,4-dihidroxi-
fenilalaninas (especialmente en la forma L, sustancialmente
exenta de la forma D), partiendo de 3,4-dihidroxibencil-levial-
quilcetonas.

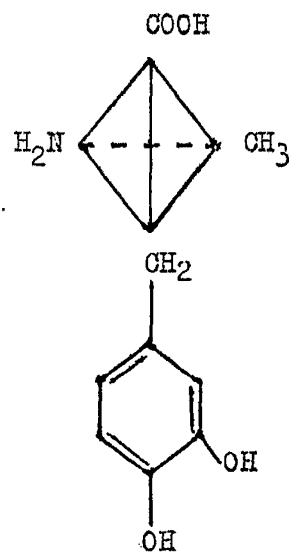
El descubrimiento de que la α -metil-3,4-dihidroxife-
nilalanina es un potente antihipertensor constituye un gran
avance en el tratamiento de la hipertensión. Este compuesto
se ha obtenido antes partiendo de 3,4-dimetoxibencil- (o hi-
drometoxibencil)-metilcetona por uno de dos procedimientos.
El primero se vale de una hidantoína, y el segundo, de un
aminonitrilo, y los dos producen α -metil-3,4-dimetoxifenil-
alanina, que se hidroliza y da el compuesto final. Ambas sín-
tesis dan una mezcla racémica. Pero la actividad hipotensiva
reside solamente en la forma L, y la forma D no sólo carece
de virtudes terapéuticas, sino que incluso es tóxica. Por
consiguiente, se ha considerado de importancia en la síntesis
que durante ella exista al menos un alcoxilo, por tender
a descomponerse los compuestos fenólicos libres a causa de
la oxidación por el aire. Hasta ahora, el riesgo de descom-
posición y/o de reacciones secundarias ha inducido a todos
los químicos a sintetizar dihidrofenilalaninas con no menos
de un hidroxilo alquilado.

Se ha comprobado ahora que las dihidroxifenilalaninas
se pueden formar directamente por mediación de hidantoína o
de aminonitrilo, sin necesidad de tal protección. En el pri-
mer caso, la dihidroxibencilcetona se agita con carbonato



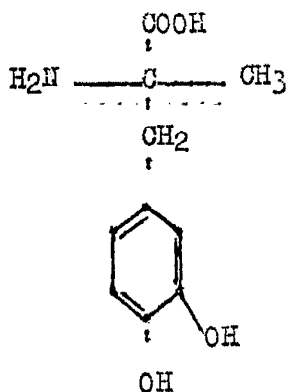
amónico acuoso y un cianuro hidrosoluble para obtener un derivado de hidantoína; en el segundo, la cetona se agita con cianuro amónico en un disolvente inerte (agua o hidrocarburo) para formar un aminonitrilo. Cualquiera de estos compuestos intermedios se convierte fácilmente en la alanina calentando a mas de 140°C en atmósfera inerte con un ácido halohídrico (con preferencia, no menos de 4n, y mejor HCl o HBr).

La síntesis química precitada produce mezclas racémicas. A fin de obtener la forma L sin la forma D, como requiere el invento, es necesario resolver el compuesto racémico en el curso de la síntesis o después. Se ha comprobado, comparando la curva de dispersión giratoria con una muestra auténtica de D(+)-dihidroxifenilalanina y la curva conocida de su L-isómero, que la forma levógira en la línea D de α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)-alanina - en la que reside toda la actividad terapéutica - pertenece a la familia de configuración espacial L. Tal disposición espacial puede exponerse así:





donde el tetraedro representa el carbono alfa asimétrico. También se representa a menudo de este modo:



5 Experimentos con otros miembros de la clase confirman que la actividad reside en la forma I, análoga a las fórmulas precedentes.

10 Las mezclas racémicas se pueden resolver en cualquier punto de la síntesis. Tan pronto como la cetona inicial se ha condensado para formar el aminonitrilo o la hidantoína, respectivamente, se constituye un carbono asimétrico, y, en consecuencia, es posible resolver la mezcla racémica en esa fase o en el producto final. La resolución en una fase temprana de la síntesis tiene la ventaja de permitir la reciclación del compuesto intermedio regenerando la cetona inicial a expensas de la forma D desechada.

15 La resolución de tales enantiomorfos se puede realizar por muy diversos métodos conocidos. Algunas mezclas racémicas se precipitan como mezclas eutécticas en vez de cristales mixtos; esto permite separarlas con rapidez, y a veces precipitarlas selectivamente.

20 No obstante, existe una gran predilección por el método de resolución química, mas corriente, por el cual se

3 0 9 7 3 0

10 FEB



forman diastereómeros de la mezcla racémica por reacción con un agente ópticamente activo. Una base con actividad óptica se puede hacer reaccionar con el grupo carboxilo, bloqueando o no los grupos amino por métodos tales como el de acilación. De manera análoga, un ácido ópticamente activo se puede tratar con el grupo amino, bloqueando o no el carboxilo, por ejemplo, mediante esterificación, formación de amida o empleo del nitrilo en una fase temprana de la síntesis. La diferencia de solubilidad entre los diastereómeros formados permite la cristalización selectiva de una forma, y la regeneración del aminoácido ópticamente activo retirado de la mezcla.

Pero hay un tercer método muy alentador de resolución, consistente en alguno de los procedimientos bioquímicos que utilizan una reacción enzimática selectiva. El aminoácido racémico se puede someter a una oxidasa o descarboxilasa asimétrica que, por oxidación o descarboxilación, destruya una forma, generalmente la L, y deje la otra intacta. Mas atrayente aún es la acción de una hidrolisasa sobre un derivado de la mezcla racémica para formar con preferencia una forma del aminoácido. Pueden someterse ésteres carboxílicos o carboxamidas de los aminoácidos a una esterasa que saponifique selectivamente un enantiomorfo y no altera el otro. De manera análoga, es posible someter los acilderivados a una hidrólisis que por selección lesacile un enantiomorfo y deje la amida enantiomórfica sin variar.

En la práctica, se ha preferido efectuar la resolución en el aminoácido racémico final, generalmente en forma de N-acilderivados. Se pueden emplear alternativamente dos productos. El metoxifenilaminoácido intermedio se acila y se resuelve, o bien se peracila el hidroxifenilaminoácido racémico



309730

libre, para obtener un aciloxifenil-N-acilaminoácido, y se resuelve éste. En ambos casos, la resolución se efectúa formando sales con bases ópticamente activas. Tales bases comprenden compuestos tales como quinina, brucina, cinchonina, cinconina, hidroxihirindamina, metilamina, morfina, α -feniletilamina, feniloxinaftilmetilamina, quiniina, l-fenquillamina, estricnina, aminoácidos básicos, como lisina, arginina, ésteres de aminoácidos, y similares.

En el método menos preferido de resolver los aminoésteres formando sales con ácidos ópticamente activos, es posible utilizar ácidos como α -bromocanfor- π -sulfónico, canfórico, canfor-10-sulfónico, helicina, ácidos málico, mandélico y metoxiacético, alcanfor oxinetilénico, ácidos quínico, tartárico, 2,2-dinitrodifénico, diaciltartárico, diacilglutámico y análogos.

Pueden ilustrar el invento los ejemplos siguientes:

EjemPlo 1º. - α -Metil- α -(3,4-dihidroxibencil)-hidantoína.

Una solución de 1,7 g de 3,4-dihidroxifenilacetona y 1,3 g de bisulfito sódico en 10 ml de agua se extracta con benceno para eliminar impurezas no cetónicas. La fase acuosa se lleva a un matraz de tres bocas y 50 ml de capacidad, y a la mezcla agitada, que se mantiene en una atmósfera de dióxido de carbono, se añade 0,85 ml de hidróxido amónico al 28% y 2,6 g de bicarbonato amónico. Se añade luego a gotas, en 30 minutos, una solución de 600 mg de cianuro sódico en 2,5 ml de agua. Al cabo de una hora a 50°, se enfría la mezcla a 25°C. El compuesto de hidantoína precipita al raspar, y, después de enfriar a 0°C, se filtra, se lava con agua fría, y se seca al aire; p.fus. 232-235°C; $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{N}^{\text{H}}1}$ 2,9, 3,0, 3,15, 5,68, 5,90 μ .

309730



EJEMPLO 2º.- DL- α -Metil-3,4-dihidroxifenilalanina.

Una suspensión de 900 mg de α -metil- α -(3,4-dihidroxibencil)-hidantoína en 10 ml de ácido clorhídrico 6n, en un tubo de vidrio de paredes gruesas, se mantiene seis horas a 170°C. Después de enfriar el tubo a 0°C, se destapa, y la mezcla reaccionante se concentra hasta sequedad, a presión reducida. El residuo seco se tritura con 20 ml de acetona, y el último extracto se trata con carbón vegetal y se filtra. Al filtrado acetónico se agregan 3 ml de óxido de propileno y 3 ml de agua. De la solución precipita el producto, DL- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina. Al cabo de dos horas a 0°C, se filtra, se lava con acetona, se seca al aire, y da un material idéntico a la verdadera DL- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina por punto de fusión, absorción IR y cromatografía sobre papel.

EJEMPLO 3º.- DL- α -Amino- α -(3,4-dihidroxibencil)-propionitrilo.

A) A una solución agitada de 4 g de cianuro potásico y 3,3 g de cloruro amónico en 35 ml de agua se añaden 5 g de 3,4-dihidroxifenilacetona, y la mezcla se mantiene a 55°C durante cinco horas. Concentrando y enfriando, precipita el clorhidrato de aminonitrilo, que se filtra, se lava con agua fría, y se seca al aire.

B) A una solución agitada de 8 g de 3,4-dihidroxifenilacetona a 10-15°C en 30 ml de tolueno se añade 0,80 g de amoniaco líquido y 1,4 g de cianuro de hidrógeno líquido (a gotas). Al cabo de ocho horas, el aminonitrilo precipitado se filtra y se seca al aire.

EJEMPLO 4º.- DL- α -Metil-3,4-dihidroxifenilalanina.

En un tubo de vidrio de paredes gruesas, se mantiene

3 0 9 7 3 0



seis horas a 170°C el 3,4-dihidroxiaminonitrilo (2 g) o su clorhidrato en 20 ml de ácido clorhídrico 6n, en atmósfera de nitrógeno. El producto se trata y se aísla como queda descrito en el ejemplo 2º.

5

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

Se reivindica como objeto de este Certificado de Adición:

1.- Mejoras introducidas en el objeto de la patente N° 266.636, expedida el 16 de Mayo de 1961, por "Procedimiento para preparar nuevos compuestos de aminoácidos", y especialmente en relación con la preparación de una L- α -levialquil-3,4-dihidroxi-fenilalanina, las cuales consisten en efectuar la preparación en las siguientes fases:

- 15 a) agitar una 3,4-dihidrobencil-levialquilcetona en una solución acuosa de carbonato amónico y un cianuro hidrosoluble, para formar una α -levialquil- α -(3,4-dihidroxi-bencil)-hidantoína;
- b) calentar esta hidantoína en atmósfera inerte a más de 140°C con ácido halohídrico acuoso; y
- c) resolver por medios conocidos en la fase a) o en la fase b).

20

2.- Mejoras en el objeto de la patente principal en relación con la preparación de una L- α -metil-3,4-dihidroxi-fenilalanina, que consisten en efectuarla en las siguientes fases:

- 25 a) agitar una 3,4-dihidrobencil-metilcetona en una solución acuosa de carbonato amónico y un cianuro hidrosoluble, para formar una α -metil- α -(3,4-dihidroxi-bencil)-hidantoína;
- b) calentar esta hidantoína en atmósfera inerte a más de 140°C con ácido halohídrico acuoso; y
- c) resolver por medios conocidos en la fase a) o en la fase b).

30

3.- Mejoras en el objeto de la patente principal en relación con la preparación de una L- α -levialquil-3,4-dihidroxi-

3 09730



fenilalanina, que consisten en efectuarla en las siguientes fases:

5 a) agitar una 3,4-dihidroxibencil-levialquilcetona en una solución de cianuro amónico, en un disolvente inerte, para formar un α -levialquil- α -amino- β -3,4-dihidroxifenilpropionitrilo;

b) calentar este nitrilo en atmósfera inerte a mas de 140°C con ácido halohídrico acuoso;

10 c) resolver por medios conocidos en la fase a) o en la fase b).

4.- Mejoras en el objeto de la patente principal en relación con la preparación de una L- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina, que consisten en efectuarla en las siguientes fases:

15 a) agitar una 3,4-dihidroxibencil-metilcetona en una solución de cianuro amónico, en atmósfera inerte, para formar un α -metil- α -amino- β -3,4-dihidroxifenil-propionitrilo;

b) calentar este nitrilo en atmósfera inerte a mas de 140°C con ácido halohídrico acuoso; y

20 c) resolver por medios conocidos en la fase a) o en la fase b).

5.- Mejoras introducidas en el objeto de la patente Nº 266.636, expedida el 16 de Mayo de 1961, por "Procedimiento para preparar nuevos compuestos de aminoácidos".

Esta memoria consta de nueve páginas, escritas por una sola cara.

BARCELONA, 15 FEB. 1965
P.A.