

309962



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

a favor de LABORATORIO MARTÍN CUATRECASAS, S.A., entidad española, domiciliada en Barcelona, Calle Vizcaya, 417-419, por "MÉTODO DE PREPARACIÓN DE UN AMINOÁCIDO ARALCOHÍLICO DOTADO DE ACTIVIDAD TERAPÉUTICA".

- . -

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un método de preparación de un aminoácido aralcohílico dotado de actividad terapéutica.

5. Hasta hace pocos años no ha sido valorada como debiera la importancia de las funciones del llamado sistema fibrinolítico, tanto en lo referente a su actividad fisiológica normal como en la intervención del mismo en diversas alteraciones patológicas, especialmente las caracterizadas por su naturaleza hemorrágica. Actualmente,
10. este complicado y no totalmente esclarecido mecanismo, con-



- trabalance de los procesos de coagulación, es objeto de extraordinario interés tanto en el plano experimental como en el de la práctica clínica y terapéutica, En efecto, en el primer caso, por ejemplo, se han visto claras relaciones entre las grasas y el colesterol y la actividad del sistema fibrinolítico, en el sentido de una inhibición de éste por el exceso de aquellas, con la consiguiente repercusión en la formación de coágulos y el desarrollo de la enfermedad aterosclerótica. En diversos trabajos, Astrup establece como origen de la aterosclerosis el depósito de fibrina en la íntima de las arterias, favorecido por la riqueza de material tromboplástico en las paredes de las mismas, juntamente con la pobreza de activadores del plasminógeno. Innerfield señala la gran importancia que tiene la fibrinolisis en el desarrollo de la inflamación, lo mismo que Ungar y Hayashi en la alergia. El desarrollo de la membrana hialina podría estar relacionado con una minusvalía del sistema fibrinolítico. Algunas experiencias parecen demostrar que existe una dependencia entre la fibrinolisis y el crecimiento de células neoplásicas . Todos estos hechos parecen confirmar las palabras de von Kaulla: "No hay duda de que un próximo futuro proporcionará más y más resultados que revelarán el papel decisivo del sistema enzimático fibrinolítico en la salud del hombre". Pero es que, además de estos estudios experimentales y teóricos, el conocimiento del sistema fibrinolítico ha proporcionado ya resultados aplicables a la clínica, como son la terapéutica trombolítica y, en un sentido totalmente opues-
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

309962

20 F



to a ésta, el tratamiento de gran número de síndromes hemorrágicos en los cuales se puede demostrar una hiperactividad del mismo.

5. Entendemos con el nombre de fibrinolisis la rotura enzimática de la fibrina en fragmentos, los cuales no son capaces posteriormente de formar una red de fibrina coherente. El fermento que lleva a cabo tal acción es la plasmina (también llamada fibrinolisisina), substancia originada por la activación mediante diversas kinasas de un profermento inerte llamado plasminógeno (o fibrinolisisina).
- 10.

15. La fibrinolisis es un proceso normal que tiene por objeto mantener a los vasos sanguíneos permeables, disolviendo constantemente los depósitos fibrinosos y los pequeños trombos que pueden originarse. El fallo de la fibrinolisis es una de las causas más importantes de la enfermedad trombótica, y la terapéutica fibrinolítica directa o por estimuladores de la fibronolisis adquiere cada día mayor importancia. Pero si la fibrinolisis insuficiente es un factor patogénico en el sentido de la trombosis, el exceso de fibrinolisis también lo es en el sentido de la producción de hemorragias.
- 20.

25. La hiperfibrinolisis puede producirse por varias circunstancias y tiene siempre como consecuencia la formación de coágulos blandos de redisolución rápida, que provocan terribles hemorragias.

Raramente la hiperfibrinolisis se debe a un agente terapéutico y, únicamente, puede producirla la estrepto-

3⁴ 09962

20 FEB

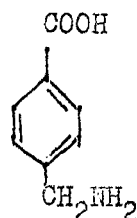


quinasa. Aún en este caso, los fenómenos no suelen ser de intensidad alarmante.

5. Con mayor frecuencia, la hiperfibrinólisis se produce por la invasión en el torrente sanguíneo de un activador directo, como la uroquinasa, o un activador indirecto, como la tromboquinasa. Esto conduce a una destrucción masiva del fibrinógeno, dando el cuadro de la afibrinogenemia, y su consecuencia directa es la hemorragia cataclísmica.
10. Las hemorragias debidas a una fibrinólisis excesiva (disolución precoz del cágulo) no pueden ser combatidas con eficacia ni por la transfusión, ni por los anti-hemorrágicos clásicos, ni por la misma inyección de fibrina.
15. Se han ensayado diversos inhibidores de la fibrinólisis de origen natural, como el de Kunitz, el de Frey, etc., pero terapéuticamente han resultado poco útiles y muy onerosos. Recientemente se ha utilizado con profusión un aminoácido sintético, el ácido epsilon-aminocaproico (EACA), pero a pesar de ser un potente inhibidor de la fibrinólisis, presenta el gran inconveniente de que se elimina rápidamente por la orina, por cuyo motivo para mantener la concentración activa adecuada en todo el cuerpo, han de administrarse dosis diarias que oscilan alrededor de los 30 gramos.
- 20.
25. El objeto del presente invento es la preparación de un nuevo y potente inhibidor enzimático de la fibrinólisis patológica: el ácido p-aminometilbenzoico (PAMBA), el cual se ha encontrado que es, tanto "in vitro" como "in



vivo" unas -10-30 veces más activo que el ácido épsilon-amino-caproico. El PAMBA es un compuesto orgánico aralcohílico, del grupo de los aminoácidos, cuya fórmula química semidesarrollada puede representarse como sigue:



5. siendo, por tanto, el homólogo superior del ácido p-amino-benzoico (o PABA), aminoácido arílico extensamente distribuido en la naturaleza en forma de factor B complejo.

El PAMBA, aminoácido aralcohílico no-esencial, presenta mucho interés por sus acusadas propiedades hemostáticas, ya que se ha mostrado como un eficaz antihemorrágico por inhibición enzimática, lo que permite utilizarlo terapéuticamente en todos los casos de hemorragias cataclísmicas, producidas por hiperfibrinólisis.

10. El aminoácido aralcohílico que se reivindica en la presente memoria no se encuentra libre en estado natural, por cuyo motivo no puede obtenerse por ningún método de extracción, y es necesario recurrir a un procedimiento de preparación sintético.

15. El ácido p-aminometilbenzoico (PAMBA) objeto de la invención, ha sido obtenido con muy buen rendimiento utilizando un método original, según se detalla a continuación, basado en la hidrogenación catalítica (a presión atmosférica o a muy baja presión) del ácido p-cianobenzoico,

3 09962

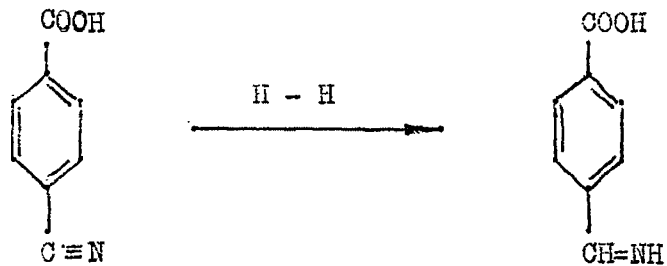


cuya fórmula química semidesarrollada es:

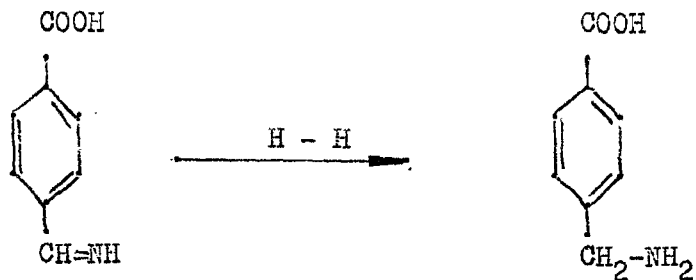


Este compuesto arílico puede hidrogenarse selectivamente. En primer lugar, el triple enlace del grupo nitrilo adiciona una molécula de hidrógeno, formándose la aldimina correspondiente:

5.



Ahora bien, el doble enlace de esta aldimina formada es muy lábil y adiciona con suma facilidad otra segunda molécula de hidrógeno, obteniéndose por tanto la amina primaria correspondiente:



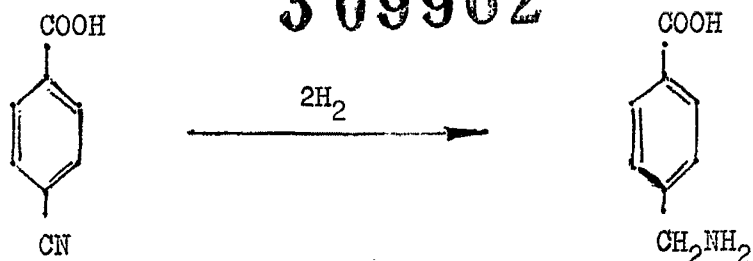
10.

Resumiendo, el ácido p-cianobenzoico absorbe dos moléculas de hidrógeno al hidrogenarlo catalíticamente, formándose por tanto el ácido p-aminometilbenzoico



(PAMBA):

3 09962

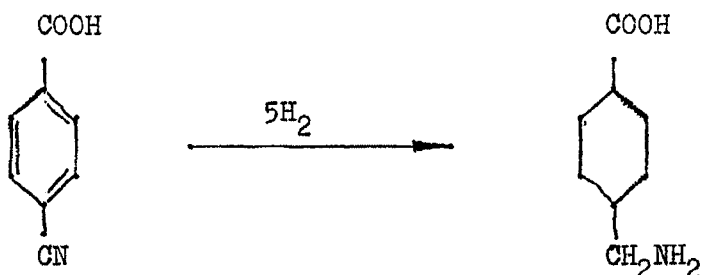


10.

Esta reacción se verifica si en la hidrogenación catalítica se emplean catalizadores moderadamente enérgicos, tales como el níquel y el cobalto Raney. Si en lugar de estos catalizadores se usa otro más activo, tal como el negro de platino, además de hidrogenarse el grupo nitrilo lo hace también el núcleo bencénico, absorbiendo entonces un total de cinco moléculas de hidrógeno y obteniéndose

15.

por consiguiente el correspondiente derivado ciclohexánico, es decir, el ácido cis-4-(aminometil)-ciclohexanocarboxílico:



25.

La hidrogenación catalítica para la obtención del PAMBA, objeto de la presente invención, se realiza a baja presión (1 a 3 atmósferas), a temperatura ambiente, con catalizadores de Ni o Co Raney, y usando como disolventes amoníaco y anhídrido acético, éste último para impedir la formación de subproductos (aminas secundarias), según se detalla a continuación:

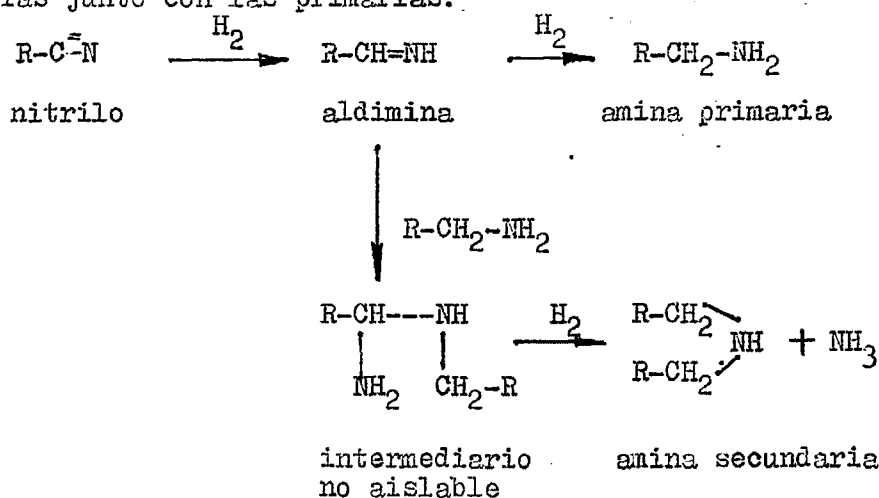
La preparación de aminas primarias por la reduc-

309962

20



5. ción de nitrilos con los reactivos químicos usuales, es, con mucha frecuencia, poco satisfactoria. El método catalítico ha sido estudiado por muchos investigadores con resultados varios. Aparentemente, el curso de la reducción está muy influenciado por la naturaleza del nitrilo, el tipo de catalizador empleado, las condiciones de temperatura y presión, etc., etc. Por regla general se forman aminas secundarias junto con las primarias:

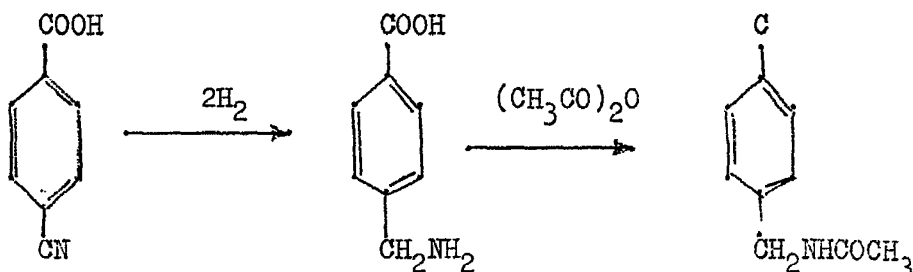


10. y aquéllas constituyen frecuentemente el principal producto de la reacción.

15. El uso del anhídrido acético como disolvente impide la formación de amina secundaria, ya que la misma amina primaria formada en el primer paso de la hidrogenación del grupo nitrilo, se acetila fácil e instantáneamente, quedando así protegida de una ulterior reacción con la aldmina para dar lugar a una molécula de amina secundaria. Por consiguiente, el curso de la hidrogenación catalítica del ácido p-cianobenzoico, en anhídrido acético como disolvente y con Ni o Co Raney como catalizadores, seguirá este otro camino.

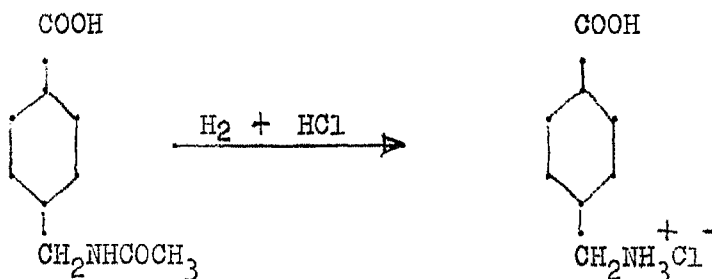
20.

309962

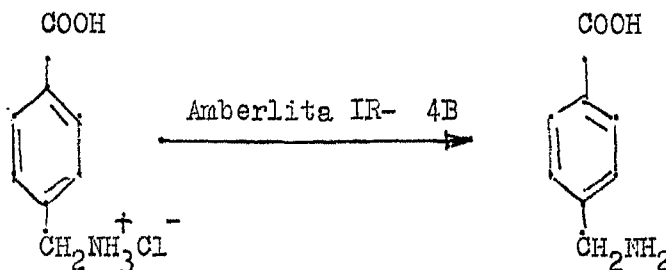


obteniéndose por tanto el derivado N-acetilado del ácido p-aminometilbenzoico (N-acetil-PAMBA).

5. El producto bruto de la reacción, sin tratamiento previo dada la gran pureza con que se obtiene, se hidroliza por ebullición en ácido clorhídrico concentrado, con lo cual se desacetila y se forma el correspondiente hidrocioruro del ácido p-aminometilbenzoico:



10. y el aminoácido libre se obtiene pasando la solución acuosa de este hidrocioruro por una columna llena de una resina intercambiadora de iones (del tipo Amberlita IR - 4B):



La solución acuosa del aminoácido libre que resulta después de columnarla, se concentra al vacío hasta

309962

20



un pequeño volumen, y al diluirla con acetona precipita el ácido p-aminometilbenzoico (PAMBA) en estado purísimo.

Para una mejor comprensión de cuanto se ha descrito se acompañan los siguientes ejemplos, los cuales se ofrecen tan sólo a título ilustrativo y no limitativo del alcance de la presente invención.

5.

EJEMPLO I

10.

15.

20.

25.

Una mezcla de 25 g. (0,17 moles) de ácido p-cianobenzoico (punto de fusión = 219 - 220°C), 4,0 g. de Raney (W - 6 o W - 7, Organic Syntheses, Coll. Vol III, (Morning), Wiley, 1962, págs. 176 - 180) y 150 ml. de anhídrido acético recién destilado, se mezclan con hidrógeno, en un autoclave provisto de termómetro y agitación mecánica, a presión inicial de 3 atmósferas y a la temperatura ambiente. El hidrógeno fué rápidamente absorbido y, después de transcurridas seis horas, se abre el autoclave y su contenido se filtra para separar el catalizador. La solución resultante se trata a la temperatura ambiente con 500 ml. de agua destilada helada, con agitación mecánica, durante 12 horas hasta completa hidrólisis del anhídrido acético en exceso. Se forma un abundante precipitado blanco y cristalino de ácido N-acetileminometilbenzoico, el cual se filtra en un embudo de Buchner fritado, se lava con 25 ml. de agua destilada helada y se deja secar al aire hasta peso constante. Su punto de fusión, determinado un microscopio Kofler de platina calentable, es de 120 - 121°C, obteniéndose 30,8 g. de producto, lo que representa un rendimiento neto del 94%.

309962 20 FEB



El ácido N-acetilaminometilbenzoico obtenido (30,8 g.) se refluje durante 2 horas con 150 ml. de ácido clorhídrico concentrado, para desacetilar el grupo amino. La solución obtenida, una vez fría a la temperatura ambiente, se evapora a sequedad, a baja presión, en un evaporador rotativo (tipo Büchi) sobre un baño de agua calentado a 40 - 50°C, obteniéndose 29,7 g. de hidrocioruro del ácido p-aminometilbenzoico, en forma de sólido blanco y cristalino, lo que representa un rendimiento neto prácticamente cuantitativo.

Este hidrocioruro del PAMBA se disuelve en 500 ml. de agua destilada a la temperatura ambiente. La solución acuosa resultante se deja descender muy despacio a través de una columna de vidrio parcialmente llena de resina intercambiadora de iones tipo Amberlita IR - 4B \int longitud total útil de la columna: 120 cm.; diámetro interior: 5 cm.; llevando en su fondo 10 cm. de lana de vidrio, encima de ésta otros 10 cm. de arena purificada y, por último, 60 cm. de la resina Amberlita IR - 4B \int Una vez ha pasado toda la disolución, se eluye la columna con l.l. de agua destilada, que se combina con la solución concentrada precedente. Se decolora con carbón activo (Norit), se filtra, y el filtrado se evapora a presión reducida con suave calentamiento, hasta pequeño volumen (alrededor de 100 ml.). Se añaden luego 300 ml. de acetona rectificada, con lo cual precipita un sólido blanco. Se deja abandonado 12 horas en el refrigerador, se filtra en un embudo de Buchner fritado, se lava con 20 ml. de acetona fría, se



309962

20 FEB 1962

escurre bien, y por último, se seca al vacío dentro de un desecador termorregulable calentado a 50°C, hasta peso constante.

- 5. Se pesa, obteniéndose 23 g. (rendimiento = 92%) de ácido p-aminometilbenzoico (PAMBA) en forma de sólido completamente blanco y cristalino, cuyo punto de fusión se determina en un tubo capilar cerrado, encontrando que funde entre 343 - 345°C (con descomposición).

- 10. Una parte alícuota de este producto (5 g.) se re-cristalizó en agua hirviendo (100 ml.). Después de seco hasta peso constante, su punto de fusión determinado como en el caso anterior, se eleva a 345 - 347°C (con descomposición), y su análisis cuantitativo da los siguientes valores:

15.	Calculado para $C_8H_9NO_2$:	C = 63,57	H = 5,96	N = 9,27
	Hallado:	C = 63,41	H = 6,07	N = 9,21

EjemPlo 2.

- 20. Una mezcla de 25 g. (0,17 moles) de ácido p-cianobenzoico (punto de fusión = 219 - 220°C), 4,0 g. de Ni Raney [W - 6 o W - 7, Organic Syntheses, Coll. Vol. III, (Morning). Wiley, 1962, pags. 176 - 180]; 75 ml. de hidrógeno amónico del 25% y 250 ml. de agua destilada, se mezclan en autoclave, provisto de agitación mecánica, a 20 - 25°C, con hidrógeno a la presión atmosférica. La cantidad teórica de hidrógeno se absorbe al cabo de seis horas.

- 25. Después de eliminar el catalizador por filtración, la solución resultante se hierve para eliminar completamente el amoníaco y, al enfriarse, precipita un pro-

309962



ducto sólido. Se recristaliza en 500 ml. de agua destilada, obteniéndose 21 g. (rendimiento = 81%) de sustancia cristalina, muy ligeramente coloreada de rosa.

5. El ácido p-aminometilbenzoico (PAMBA) obtenido tiene punto de fusión comprendido entre 344 - 346°C, determinado en un tubo capilar cerrado, y funde con descomposición. El análisis cuantitativo del PAMBA obtenido por este método es completamente aceptable, dando valores algo más bajos que el sintetizado por el método precedente.

10. Serán independientes del alcance de la presente invención los detalles y características accesorias empleadas en su puesta en práctica, así como los medios y aparatos y, en general, cuanto no altere el espíritu de las siguientes reivindicaciones.

- . -

N O T A

15. Se reivindica como objeto de la presente patente de invención:

1. Método de preparación de un aminoácido aralcohílico dotado de actividad terapéutica, caracterizado esencialmente por el hecho de partir de un ácido cianocarboxílico arílico: el ácido p-cianobenzoico, y verificar su hidrogenación catalítica empleando catalizadores de níquel o cobalto Raney.

2. Método de preparación de un aminoácido aral-

309962

20 FEB



5. cohílico de actividad terapéutica, según la reivindicación 1, caracterizado esencialmente por verificar la hidrogenación catalítica del ácido p-cianobenzoico de partida en el seno de anhídrido acético, utilizado como disolvente y, además, para impedir la formación de aminas secundarias (subproductos inactivos).

10. 3. Método de preparación de un aminoácido aralcohílico de actividad terapéutica, según la reivindicación 1, caracterizado esencialmente por verificar la hidrogenación catalítica del ácido p-cianobenzoico de partida en el seno de hidróxido amónico, utilizado como disolvente.

15. 4. Método de preparación de un aminoácido aralcohílico de actividad terapéutica, según las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado esencialmente por verificar la hidrogenación catalítica del ácido p-cianobenzoico de partida a una presión de trabajo comprendida entre 1 y 3 atmósferas y operar a la temperatura ambiente.

20. 5. Método de preparación de un aminoácido aralcohílico dotado de actividad terapéutica.

La presente memoria consta de catorce hojas foliadas escritas a máquina por una sola cara.

Barcelona, 20 de febrero de 1965.

LABORATORIO MARTÍN
CUATRECASAS, S.A.

p.a.

L. PONTJ
P.