

314490

P.- 29.553

4 AGO. 1965

S 4088-Z 1597

227/6/km



MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud

d e

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

formulada el 22 de Junio de 1.965, con el número 314.490

e n

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE VĚD, entidad checoslovaca, establecida en Praga, Checoeslovaquia, por:

"UN METODO DE PRODUCCION DE DERIVADOS DE QUINETINA"

La presente invención se refiere a derivados de quinetina, usados como estimulantes en preparaciones de plantas, y a un método para producirlos.

5 Los compuestos del grupo de la quinina son conocidos como hormonas de plantas, que estimulan la división de células. Una gran desventaja de las sustancias de esta clase conocidas hasta ahora, es decir, 6-furfurilaminopurina (quinetina) y los derivados 6-alcoholamino- y 6-arilamino- de la purina, es su relativamente pequeña solubili-

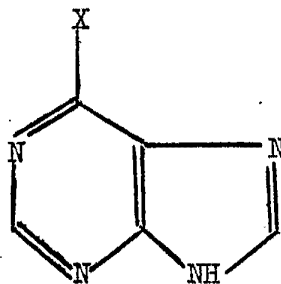
10 dad en agua y, en consecuencia, la dificultad para ser

314490



transportados por el tejido de las plantas. La clase de aplicación de las sustancias conocidas hasta ahora se basa en el hecho de que las sustancias eficaces se inyectan en el peciolo, lo que es técnicamente difícil, y desfavorable desde un punto de vista práctico. En vista de estos hechos, el principal problema se encuentra en la síntesis de sustancias del tipo de la quinetina, tales que contengan en la molécula un grupo que proporcione una solubilidad suficiente del compuesto en agua, al tiempo que se conserve su alta eficacia fisiológica y su buen transporte por los tejidos de las plantas, sin dañarlos, y que por tanto sean adecuadas para su aplicación práctica. Los derivados de quinetina preparados por el método según la presente invención cumplen con estos requisitos.

De hecho, el principio de la presente invención es que los derivados de purina, de fórmula general:



donde X significa un halógeno o un grupo alcoholmercapto con de 1 a 4 átomos de carbono, se condensan en medio alcalino con aminoácidos de fórmula general $RNH_2CHCOOH$, donde R representa un resto alifático, aromático-alifático, alicíclico o heterocíclico, y el producto de condensación se purifica por cristalización, preferiblemente con solución acuosa de alcohol o solución acuosa de acetona. El



radical R del aminoácido puede ser alifático, con de 1 a 6 átomos de carbono; o aromático, ya sea fenilo o naftilo; o puede ser aromático-alifático con de 7 a 8 átomos de carbono; o alicíclico con de 5 a 6 átomos de carbono; o heterocíclico con de 4 a 6 átomos de carbono. La síntesis se realiza preferiblemente por condensación de derivados 6-carboxialcoholamino- o 6-carboxiaralcoholamino de la purina, por ejemplo 6-cloropurina o 6-metilmercaptapurina, con el correspondiente aminoácido, por ejemplo alfa-fenilglicina, calentando una mezcla (preferiblemente equimolar) de las dos sustancias en presencia de una base orgánica o inorgánica (preferiblemente un equivalente) en un disolvente polar, por ejemplo etilenglicol.

Las formas de aplicación de las preparaciones de este tipo se preparan disolviendo las sustancias en un disolvente polar, por ejemplo en agua o alcohol, para obtener una solución líquida, o en forma de pasta, homogeneizando la preparación con sustancias de carácter céreo o de grasa, por ejemplo lanolina.

La ventaja de los derivados de quinina preparados por el método según la presente invención estriba en su mejor solubilidad y mayor eficacia fisiológica, como es evidente comparando la N-(6-purinil)-alfa-fenilglicina con otros compuestos análogos de quinina conocidos hasta ahora.

Solubilidad de los compuestos análogos de quinina:

6-furfurilaminopurina	2 mg/1000 ml H ₂ O
6-bencilaminopurina	3 - 4 mg/1000 ml H ₂ O

Solubilidad de sustancias preparadas según la

314490



presente invención:

N-(6-purinil)-histidina	8 mg/50 ml H ₂ O
N-(6-purinil)-alfa-fenilalanina	10 - 12 mg/50 ml H ₂ O
N-(6-purinil)-alfa-fenilglicina	10 - 12 mg/50 ml H ₂ O

5 Aumento de capullos en un manzano, estimulado mediante diversos compuestos análogos de quinetina, 18 días después de su aplicación (concentración: 5×10^{-3} moles, 5 - 10 μ g/capullo):

6-furfurilaminopurina	7,6 mm
10 ribósido de 6-furfurilaminopurina	8,3 mm
6-bencilaminopurina	7,0 mm
glucósido de 6-bencilaminopurina	7,4 mm
N-(6-purinil)-alfa-fenilalanina	4,0 mm
N-(6-purinil)-histidina	4,1 mm
15 N-(6-purinil)-alfa-fenilglicina	12,0 mm

Las sustancias preparadas por el método según la presente invención tienen un notable efecto sobre la división de las células, el cual se puede usar en trabajo de investigación y aplicarse también en la práctica, en lu
 20 gar de los derivados de quinetina hasta ahora usados, por ejemplo para estimular la formación y crecimiento de capu
 llos en el cultivo de tejido, para reducir los procedimien
 tos catabólicos de los vegetales de hojas, para estimular el crecimiento de hojas y capullos de árboles frutales,
 25 como ingrediente en la interacción con ácido alfa-naftila
 cético, etc. Es prematuro citar todos los usos posibles, debido al hecho de que en la literatura fisiológica se publican continuamente nuevos datos sobre el uso de la quinetina.

314490



Ejemplo 1

1,54 g de 6-cloropurina se trataron a reflujo con 1,51 g de alfa-fenilglicina y 0,84 g de bicarbonato sódico, en 10 ml de metoxietanol (metilcellosolve) durante 3 horas, a 130°C. Después de acabar el calentamiento, el disolvente (metilcellosolve) se eliminó por destilación a presión reducida (20 mm Hg), y el residuo sólido se disolvió en acetona al 90%, a 50°C; la solución se descoloró con carbón activo, y se filtró a la temperatura anterior. Durante el enfriamiento se separaron sustancias blancas cristalizadas; se filtraron, secaron y recristalizaron bajo las mismas condiciones. La N-(6-purinil)-alfa-fenilglicina resultante tenía un punto de fusión de 230 - 232°C. Su identidad se controló por cromatografía sobre papel Whatman nº 1, en un sistema de acético/butanol/agua, y por detección bajo luz ultravioleta, después de impregnación con una solución al 0,001% de fluoresceína en etanol. El R_F de esta sustancia es 0,63. Para $C_{13}H_{11}N_5O_2$ (269,2): calculado, 26,01% N; hallado, 25,47% N. El rendimiento de N-(6-purinil)-alfa-fenilglicina es 1,3 g, es decir, 49%.

Ejemplo 2

Una mezcla de 3,32 g de metilmercaptapurina, 3,00 g de alfa-fenilglicina y 1,68 g de bicarbonato sódico en 12 ml de etilénglicol se calentaron bajo un condensador de reflujo, durante 20 horas, en un baño de aceite 180°C. Después de enfriar, el producto oscuro de reacción se disolvió en agua y se dispuso en una columna que contenía 45 g de una resina catiónica muy ácida, por ejemplo

314490



5 Dowex 50. Se eluye etilén-glicol con agua y amoniaco 0,4N; el eluido contiene el producto de condensación más una pequeña cantidad de las sustancias iniciales, es decir, se eluyen 6-metilmercaptopurina y alfa-fenilglicina y trazas de hipoxantina. Estos productos secundarios se eliminaron con etanol al 80-90%, por triple cristalización. El punto de fusión, R_T y composición elemental de la sustancia aislada son idénticos a los valores mencionados en el Ejemplo 1.

10

Ejemplo 3

15 5 g de 6-cloropurina y 4,2 g de isoleucina se calentaron en 150 ml de metoxietanol, en presencia de una cantidad equimolecular de una base, de forma análoga a la descrita en el Ejemplo 1. Se obtuvo N-(6-purinil)-isoleucina con rendimiento del 44%.

Ejemplo 4

20 Se calentaron 5 g de 5-cloropurina con 5,8 g de fenilserina, en 150 ml de metoxietanol, en presencia de una cantidad equivalente de base, bajo las mismas condiciones que en el Ejemplo 1. El rendimiento de N-(6-purinil)-fenilserina fue del 36%.

Ejemplo 5

25 5 g de 6-cloropurina se calentaron con 5,5 g de fenilalanina en 150 ml de metoxietanol, en presencia de una cantidad equivalente de la base, bajo las mismas condiciones mencionadas en el Ejemplo 1. Se recuperó N-(6-purinil)-fenilalanina con rendimiento del 52%.

30

314400



Ejemplo 6

La reacción de 5 g de 6-cloropurina con 5,01 g de histidina, según el Ejemplo 1, produjo 43% de N-(purinil)-histidina.

5

Ejemplo 7

Una mezcla de 2,0 g de butilmercaptapurina, 1,65 g de alfa-fenilalanina y 0,84 g de bicarbonato sódico en 6 ml de etilénglicol se calentó y trató de forma análoga a la del Ejemplo 2. Se obtuvo N-(6-purinil)-alfa-fenilalanina con rendimiento del 34%.

10

Ejemplo 8

Se calentaron 3,8 g de 6-aililmercaptapurina con 3,0 g de alfa-fenilglicina en 12 ml de etilénglicol, en presencia de una cantidad equivalente de la base, bajo las condiciones mencionadas en el Ejemplo 2. Se recuperó N-(6-purinil)-alfa-fenilglicina con rendimiento del 36%.

15

La presente solicitud que corresponde a la presentada en Checoeslovaquia, el 26 de Junio de 1.964, bajo el número PV 3684-64, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

20

25

N O T A

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

30

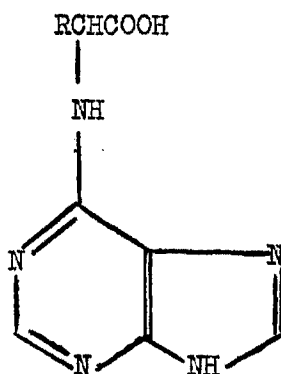
314490



1.- Un método de producción de derivados de qui
netina de la fórmula general

5

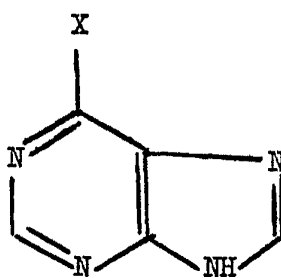
10



15

donde R representa un grupo alifático con 1-6 átomos de
carbono o un grupo aromático, naptilo o fenilo, o un gru-
po aromático-alifático con 7-8 átomos de carbono, o un
grupo alicílico con 5-6 átomos de carbono, o un grupo he-
terocíclico con 4-6 átomos de carbono, que comprende con-
densar un derivado de purina de la fórmula general

20



25

donde X representa un halógeno o un grupo alcohol mercapto
con 1-4 átomos de carbono, en medio alcalino con un amino
ácido de la fórmula general $\text{RNH}_2\text{CHCOOHm}$ donde R tiene el
mismo significado que anteriormente, y el producto de con-
densación obtenido es purificado por cristalización.

30

2.- Un método de producción de derivados de qui

314490



netina.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

5 Esta Memoria consta de nueve hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

- 4 AGO. 1955

P. A.

[Handwritten signature]

G.D.S.

- 9 -

M. Ch