

P - 45.186

67/560 PF/0j

381363

381363



Memoria descriptiva

SECCION	_____
CLASIFICACION	_____
CLASE	A 61
SUBCLASE	R

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de RICHTER GEDEON VEGETSIZETI GYAR RT

entidad / ~~nacionalidad~~ húngara

con domicilio en Gyömrői u. 17, Budapest, Hungría.

por: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE AMINOACIDOS
O ESTERES DE AMINOACIDOS BASICOS PARCIALMENTE
PROTEGIDOS" (Clase Internacional CO7d)



El invento concierne a la preparación de nuevos aminoácidos y péptidos básicos, parcialmente protegidos (que además del grupo alfa-amino contienen también un grupo básico más), que muestran un efecto inhibitor de las úlceras.

5 En los últimos tiempos han aparecido cada vez más referencias bibliográficas acerca de la biosíntesis de complejos de mucopolisacáridos ácidos-proteínas, así como acerca de los diferentes sistemas de enzimas que desempeñan un papel considerable en las enfermedades del tejido conectivo (por ejemplo elastasa, pronasa, colagenasa, etc). A las diferentes enzimas proteolíticas presentes en las células del tejido conectivo se ha atribuido en los últimos tiempos un importante papel también en las enfermedades inflamatorias. La inhibición o estimulación de estas enzimas constituye una nueva orientación en la investigación de medicamentos. Se introdujeron en la práctica en los últimos tiempos diferentes preparados medicinales, que actúan como inhibidores de determinados sistemas de enzimas (por ejemplo inhibidores de monoaminoxidasa, inhibidores de tripsina o de calicreína, etc.).

15 Se ha encontrado ahora de manera sorprendente que los aminoácidos básicos parcialmente protegidos de la fórmula general



25 en la que X representa un grupo orgánico que contiene un átomo de nitrógeno acilable, Ac representa un grupo acilo unido con el átomo de nitrógeno citado y R representa hidrógeno o un grupo alcohilo de 1 a 5 átomos de carbono, así como sus sales por adición formadas con ácidos farmacéutica-

30 **381363**



-2

mente utilizables, poseen ventajosas propiedades farmacológicas, sobre todo un efecto inhibitor de las úlceras, y además que favorecen también la incorporación de azufre en los tejidos cartilagosos, y muestran efectos reductores del peso corporal.

5

Los nuevos compuestos inhiben en ratas, prácticamente de modo total, el desarrollo de úlceras provocadas artificialmente. Se puede suponer que este efecto se encuentra relacionado con la estimulación de la o de las enzimas que participan en la biosíntesis de los mucopolisacáridos ácidos. Con este efecto está relacionado probablemente también el hecho, comprobado experimentalmente, de que los nuevos compuestos aumentan considerablemente la incorporación de S^{35} en los cartílagos y en los estómagos de las ratas; la magnitud de esta incorporación puede ser considerada también como un indicador de la biosíntesis del complejo de mucopolisacárido ácido-proteína. No se puede encontrar en la bibliografía hasta ahora ninguna indicación de que se hubiera comprobado experimentalmente "in vivo" una considerable elevación de la fijación de S^{35} en los cartílagos. El mecanismo del efecto reductor del apetito arriba citado no puede coincidir con el de los depresores del apetito ya usuales, dado que no se pudo comprobar ningún efecto sobre el sistema nervioso central en el caso de los nuevos compuestos.

10

15

20

25

Para los nuevos compuestos de la fórmula general I de acuerdo con el invento es característica la presencia del grupo alfa-amino libre, con lo cual se garantiza la solubilidad en agua de estos nuevos compuestos.

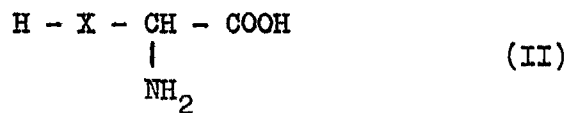
30

En el lugar de X pueden encontrarse prácticamente



cualesquiera grupos orgánicos que contienen un átomo de ni-
 trógeno acilable, por ejemplo una cadena alcoholeno susti-
 tuída por un radical amino en la posición alfa (tal como en
 el caso de lisina), una cadena alcoholeno sustituida por un
 5 radical guanidino (tal como en el caso de arginina) o un gru-
 po alcoholeno sustituido por un radical heterocíclico que
 contiene el átomo de nitrógeno acilable como miembro del
 anillo (por ejemplo grupo metileno, tal como en el caso de
 histidina); el grupo Ac puede ser un grupo acilo cualquiera,
 10 unido con el átomo de nitrógeno acilable citado, por ejem-
 plo el grupo acilo de un ácido carboxílico alifático de 1
 a 5 átomos de carbono o un ácido carboxílico que contiene
 un radical fenilo, tal como un grupo benciloxicarbonilo, y
 además un grupo acilo que contiene otros grupos básicos,
 15 por lo tanto un grupo aminoacilo; en el último caso el gru-
 po amino de este grupo acilo puede estar protegido ventaja-
 samente también de manera de por sí conocida, por ejemplo
 por un radical para-clorobenciloxicarbonilo. El sustituyen-
 te R puede ser hidrógeno o un grupo alcoholeno de 1 a 5 áto-
 20 mos de carbono; en el primer caso, la molécula es capaz de
 la formación de una sal interna, mientras que en el último
 resultan ésteres alcoholílicos inferiores.

Los nuevos compuestos de la fórmula general I son
 preparados, de acuerdo con el invento, transformando un al-
 25 fa-aminoácido que contiene otro radical básico, de la fór-
 mula general II



en que X tiene el significado anterior, de manera de por sí
 30 conocida, en un derivado de complejo metálico, ventajosemen-

381363



te derivado de complejo de cobre, que contiene en forma pro
tegida el grupo alfa-amino y el grupo carboxilo, después se
acila éste con un agente de acilación apropiado para la in
troducción del radical acilo Ac deseado en el producto fi
nal, convenientemente con un cloruro de ácido de la fórmula
5 general Ac-Cl o con un derivado del grupo acilo Ac, que con
tiene la función carboxilo en forma activada, después se
descompone el complejo metálico de manera conocida, y en ca
so deseado se esterifica el compuesto de la fórmula general
10 I obtenido, que en lugar de R contiene un átomo de hidróge
no, con un agente apropiado para la introducción de un gru
po alcoholilo de 1 a 5 átomos de carbono y/o se transforma el
producto en una sal terapéuticamente utilizable.

Si se utiliza lisina como sustancia de partida de
15 la fórmula general II, el procedimiento de acuerdo con el
invento se puede llevar a cabo entonces de modo especialmen
te ventajoso utilizando una sal de cobre divalente para la
formación del complejo metálico, y acilando el grupo épsi
lon-amino de la lisina con cloruro de para-clorocarbobenzoxi
20 carbonilo en presencia de agentes fijadores de ácido, conve
nientemente de óxido de magnesio. De este modo, después de
la descomposición del complejo metálico, se obtiene con ex
celente rendimiento un compuesto de la fórmula general I,
en la que el grupo acilo Ac está representado por un grupo
25 para-clorobenciloxicarbonilo, X está representado por un
grupo $-NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ y R está representado por un áto
mo de hidrógeno; este compuesto puede ser transformado en
tonces de manera de por sí conocida, por ejemplo por la si
multánea reacción con cloruro de tionilo y alcohol metílico,
30 en el correspondiente éster.



Los compuestos de la fórmula general I que se pueden preparar de acuerdo con el invento son nuevos productos hasta ahora no descritos en la bibliografía.

5 Los compuestos de la fórmula general I preparados de acuerdo con el invento se obtienen, dependiendo de las condiciones de reacción utilizadas, en la forma de bases libres o de sales por adición de ácido. Los compuestos de la fórmula I que, en el lugar de R contienen un átomo de hidrógeno, pueden formar también sales metálicas, o sales de amonio o sales amínicas. A partir de los compuestos obtenidos
10 en la forma de sales, las bases o ácidos básicos pueden ser liberados de manera de por sí conocida, o se pueden transformar dichos compuestos en otras sales deseadas, convenientemente utilizables terapéuticamente, especialmente sales por adición de ácido.
15

El procedimiento de acuerdo con el invento es explicado con más detalle mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Clorhidrato de éster metílico de 2-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-lisina.

20 a) 9,0 g (0,049 moles) de monoclórhidrato de L-lisina son disueltos en 100 ml de agua, la solución es mezclada con 3,5 g de carbonato de cobre y la suspensión obtenida es puesta en ebullición durante una media hora. Después del enfriamiento a la temperatura ambiente, se separa por filtración la mezcla de reacción. El filtrado de color azul de
25 titanio es mezclado con 6,0 g de óxido de magnesio, la mezcla es enfriada a 0°C y es mezclada gota a gota a esta temperatura, bajo agitación, en el espacio de una media hora, con 12,7 ml de cloruro de para-clorobenciloxicarbonilo (véase L. Kisfaludy y S. Dualszky, Acta Chim. Hung. 24, 301,
30

381363



1960). La mezcla de reacción es agitada a la temperatura ambiente durante 2 horas más, después en enfriada de nuevo a 0°C y el precipitado de color azul de lavanda separado es filtrado, sobre el filtro es lavado a fondo con agua, luego con alcohol y finalmente con éter, y es secado en aire. De este modo se obtienen 18,6 g de complejo de cobre.

El complejo de cobre así obtenido es pulverizado a fondo y es suspendido en 325 ml de ácido clorhídrico 1 N. Durante 2 a 3 horas se conduce gas de sulfuro de hidrógeno a través de la suspensión, después se pone en ebullición la suspensión y se filtra en estado caliente para eliminar el sulfuro de cobre. El filtrado muy transparente es enfriado y es ajustado a pH 5 con solución concentrada de hidróxido de amonio; el precipitado blanco obtenido es separado por filtración, es lavado con agua y es secado en el desecador de vacío sobre pentóxido de fósforo. Se obtienen 11,9 g de épsilon-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-lisina (77% de la teoría); p. de f. 236-238°C.

b) En un matraz de fondo redondo de 4 bocas, equipado con agitador, termómetro, embudo de goteo y tubo de CaCl_2 , se suspenden 6,3 g (0,02 moles) de épsilon-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-lisina en 42 ml de metanol absoluto. La suspensión es enfriada a 0°C y es mezclada gota a gota bajo agitación con 1,7 ml (0,023 moles) de cloruro de tionilo. Después de algunos minutos se obtiene una solución amarilla transparente, ésta es dejada reposar durante una hora y media a 40°C y después durante 20 horas a la temperatura ambiente. Luego se separa por filtración la solución, y se evapora en vacío. El residuo sólido de color blanco amarillento es disuelto en metanol y la solución es evaporada



da de nuevo hasta sequedad. Esta operación se repite dos ve
ces más y finalmente el producto es cristalizado en meta-
nol/éter. La mezcla es dejada reposar durante algunas horas
en la nevera, después se separan por filtración los crista
5 les, se lavan con una mezcla de éter y metanol (3:1), y se
secan en el desecador de vacío sobre hidróxido de sodio. Se
obtienen 5,1 g de clorhidrato de éster metílico de épsilon-
-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-lisina, p. de f. 158-160°C.
R_f = 0,48 (la investigación por cromatografía en capa delga
10 da se llevó a cabo en placas de "gel de sílice detrás de
acero" con acetato de etilo-piridina-ácido acético glacial-
-agua 60:20:6:11; el revelado tuvo lugar con ninhidrina o
con cloro y toluidina.

Análisis: C₁₅H₂₂O₄N₂Cl₂ (365,25)

15 Calculado: C 49,3 %, H 6,1 %, N 7,7 %, Cl 19,4 %;

Encontrado: C 49,5 %, H 6,3 %, N 7,8 %, Cl 19,3 %.

Ejemplo 2. Clorhidrato de éster metílico de delta-
-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-ornitina.

a) 16,9 g (0,1 moles) de monoclórhidrato de L-or
20 nitina son disueltos en 170 ml de agua, la solución es mez
clada con 5,85 g de carbonato de cobre y la suspensión obte
nida es calentada hasta ebullición. Después del enfriamien
to, la mezcla es filtrada, el filtrado de color azul oscuro
es enfriado a 0°C y es mezclado bajo agitación, gota a gota,
25 en el espacio de 20 minutos, simultáneamente con 20,7 ml de
cloruro de para-clorobenciloxicarbonilo y 101,4 ml de lejía
de sosa 2 N. La mezcla de reacción es agitada durante una
media hora más a la temperatura ambiente, después se separa
por filtración el precipitado de color azul claro separado,
30 se lava con agua y etanol y se seca en aire.

381363



El complejo de cobre obtenido es suspendido en 500 ml de agua y se conduce a través de la suspensión durante 2 a 3 horas gas de sulfuro de hidrógeno. La mezcla es dejada reposar durante la noche en un recipiente bien cerrado. El día siguiente, la suspensión es diluida con 1000 ml de agua y es calentada hasta ebullición. La mezcla caliente es mezclada con una cantidad de ácido clorhídrico tal que el precipitado blanco separado junto con el sulfuro de cobre divalente se debe disolver de nuevo. El sulfuro de cobre es separado por filtración en caliente y el filtrado es ajustado a pH 4-5, después del enfriamiento, por la adición de solución concentrada de hidróxido de amonio. El producto blanco precipitado es separado por filtración, es lavado con agua y es secado en el desecador de vacío, sobre pentóxido de fósforo. Se obtienen 17,6 g de delta-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-ornitina; p. de f. (249)-253-255°C.

b) En un matraz de fondo redondo de 4 bocas equipado con agitador, termómetro, embudo de goteo y tubo de cloruro de calcio se suspenden 15,1 g (0,05 moles) de delta-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-ornitina en 105 ml de metanol absoluto. La suspensión es enfriada a 0°C y es mezclada, bajo agitación, gota a gota con 4,25 ml (0,0575 moles) de cloruro de tionilo. Después de algunos minutos se obtiene una solución amarillenta transparente, que es dejada reposar durante 1,5 horas a 40°C y luego durante 20 horas a la temperatura ambiente. Luego la solución es filtrada y es evaporada hasta sequedad en vacío. El residuo sólido de color blanco amarillento es disuelto en metanol y la solución es evaporada de nuevo. Esta operación se repite dos veces más y después se cristaliza el residuo en una mezcla de me

381363



tanol y éter. El producto bruto (13,4 g) es recristalizado una vez más en metanol/éter. Se obtienen 9,3 g de clorhidrato de éster metílico de delta-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-ornitina; p. de f. 160-162°C; $R_f = 0,48$.

5

Análisis: $C_{14}H_{22}O_4N_2Cl_2$ (351,22)

Calculado: C 47,9 %, H 5,7 %, N 8,0 %, Cl 20,2 %;

Encontrado: C 47,9 %, H 5,9 %, N 8,1 %, Cl 20,3 %.

Ejemplo 3: épsilon-(para-clorobenciloxicarbonil)-L-tirosil)-L-lisina.

10

En un matraz de fondo redondo de 4 bocas de 250 ml, equipado con agitador, termómetro, embudo de goteo y tubo de cloruro de calcio, se disuelven 10,3 g (29,4 milimoles) de para-clorobenciloxicarbonil-L-tirosina en 100 ml de tetrahidrofurano absoluto, que previamente había sido mezclado con 4,1 ml (29,4 milimoles) de trietilamina. La solución es enfriada a -15°C y es mezclada gota a gota bajo agitación con 3,82 ml (29,4 milimoles) de éster isobutílico de ácido clorocarbónico, con una velocidad tal que la temperatura de la mezcla debe mantenerse en este caso por debajo de -10°C. Después de la terminación de la adición gota a gota, se sigue agitando durante 10 minutos más a -10°C la suspensión blanca obtenida. Luego se añade gota a gota una solución acuosa del complejo de cobre, que había sido preparado del siguiente modo: la suspensión de 5,5 g (30 milimoles) de monoclóhidrato de L-lisina y 1,75 g de carbonato de cobre en 30 ml de agua es puesta en ebullición durante media hora; después del enfriamiento se filtra la mezcla y se mezcla el filtrado de color azul oscuro con 15 ml de lejía de sosa 2 N.

15

20

25

30

Durante la adición gota a gota de la solución acuosa

- 10 - 381363



sa anterior se mantiene en -10°C la temperatura de la mezcla de reacción. Después de la adición gota a gota se elimina el baño de refrigeración y se agita la mezcla de reacción hasta el calentamiento a la temperatura ambiente. La suspensión de color azul claro obtenida es vertida en 600 ml de agua. Después de enfriar durante 1 hora, se separa por filtración el precipitado de color azul de lavanda, se lava con agua y se seca en aire. Rendimiento: 11-12 g.

El complejo de cobre-dipéptido obtenido de este modo es suspendido en 450 ml de agua y la suspensión es mezclada con 30 ml de ácido clorhídrico 1 N. Después se introduce en la suspensión durante 3 horas, bajo calentamiento, gas de sulfuro de hidrógeno, y se separa por filtración en caliente el sulfuro de cobre divalente resultante. Después del enfriamiento, el filtrado es ajustado a pH 5 por adición de lejía de sosa concentrada. El producto blanco separado es filtrado y es lavado con agua.

Se obtienen 6,15 g de épsilon-(para-clorobenciloxi carbonil-L-tirosil)-L-lisina. P. de f. $218-220^{\circ}\text{C}$ (con descomposición); $R_f = 0,2$.

Análisis: $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{N}_3\text{Cl}$ (477,93)
 Calculado: C 57,8 %, H 5,9 %, N 8,8 %, Cl 7,4 %;
 Encontrado: Cl 7,4 %.

Esta solicitud que corresponde a la presentada en Hungría, el 3 de Julio de 1.969, bajo el N^o RI-374, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

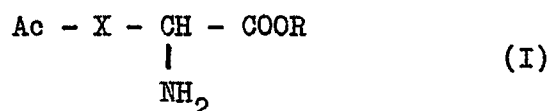
1.7.70



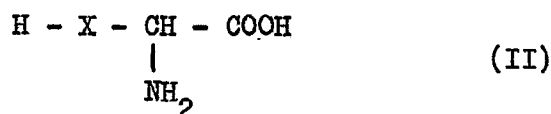
N O T A

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

10 1.- Procedimiento para la preparación de aminoáci-
dos o ésteres de aminoácidos básicos parcialmente protegi-
dos, de la fórmula general I



15 en que X representa un grupo orgánico que contiene un átomo
de nitrógeno acilable, Ac representa un radical acilo unido
con el átomo de nitrógeno citado y R representa hidrógeno
o un grupo alcoholilo de 1 a 5 átomos de carbono, y de sus sa-
les por adición de ácido o de las sales eventualmente inter-
nas de los ácidos carboxílicos libres, caracterizado porque
20 se transforma un alfa-aminoácido que contiene otro radical
básico, de la fórmula general II



25 en que X tiene el significado anterior, de manera de por sí
conocida, en un derivado de complejo metálico, ventajosamente
derivado de complejo de cobre que contiene en forma pro-
tegida el grupo alfa-amino y el grupo carboxilo, después se
30 acila éste con un agente de acilación apropiado para la in-
troducción del radical acilo Ac deseado en el producto fi-

1.7.70



nal, convenientemente con un cloruro de ácido de la fórmula general $Ac-Cl$, o con un derivado del grupo acilo Ac que contiene la función carboxilo en forma activada, después se descompone el complejo metálico de manera conocida, y en caso deseado se esterifica el compuesto obtenido de la fórmula general I, que en el lugar de R contiene un átomo de hidrógeno, con un agente apropiado para la introducción de un grupo alcohilo de 1 a 5 átomos de carbono y/o se transforma el producto obtenido en caso deseado en una sal, ventajosamente en una sal por adición de ácido utilizable terapéuticamente.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, para la preparación de ϵ -para-(clorobenciloxicarbonil)-lisina y sus ésteres, caracterizado porque se utiliza lisina en calidad de sustancia de partida de la fórmula II, se transforma ésta, por reacción con una sal de cobre divalente, en el correspondiente derivado de complejo metálico, después se acila el grupo ϵ -amino con cloruro de para-clorobenciloxicarbonilo, se descompone el complejo metálico convenientemente con sulfuro de hidrógeno y se transforma el producto obtenido, en caso deseado, convenientemente con ayuda de una mezcla de cloruro de tionilo y un alcohol de 1 a 5 átomos de carbono, en un éster alcohílico inferior.

3.- Procedimiento para la preparación de aminoácidos o ésteres de aminoácidos básicos parcialmente protegidos.

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

381363

-2 JUL 1970





Esta Memoria consta de trece hojas y la presente
escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

P.A.

-2 JUL 1970

Alberto de Euzkadi
Por Poderes



1.7.70
AMC/

381363