

F.E. 21-7-75

Int. Cl. 2: C07C/A61K

409 192

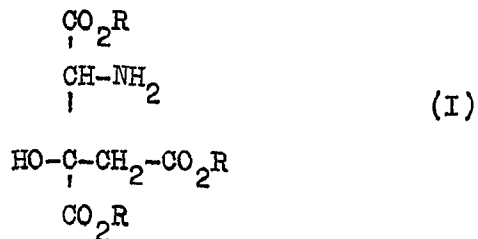
P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE DERIVADOS DEL ACIDO AMINO-CITRICO", a favor de la firma suiza F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., S.A., residente en BASILEA (Suiza).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de la fórmula



en la que

R representa un átomo de hidrógeno o un grupo de alquilo inferior,

10. y sus sales, así como también a un procedimiento para la pre-

409 192

paración de los mismos.

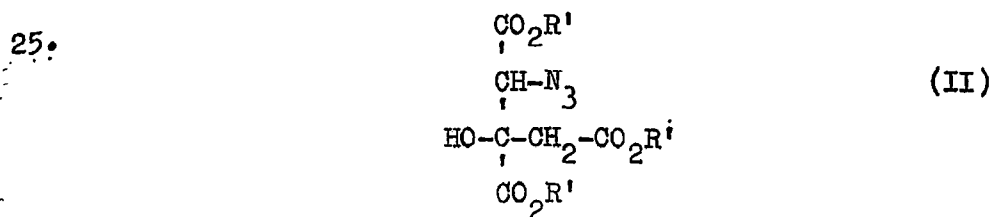
Como aquí se utiliza a través de la descripción y las reivindicaciones anexas, la expresión "alquilo inferior" significa un grupo de hidrocarburo de cadena lineal o ramifi-

5. cada, carente de insaturaciones y que presenta a lo sumo 8 átomos de carbono inclusive, como metilo, etilo, hexilo, isopropilo, tercibutilo, etc. La expresión "arilo" significa fenilo o naftilo, los cuales pueden estar substituidos por uno de los grupos siguientes: halógeno (o sea cloro, bromo, yodo o fluor), alquilo inferior, hidroxilo, alcoxilo inferior o nitro.
- 10.

- Los compuestos de la fórmula I y sus sales aceptables farmacéuticamente inhiben la síntesis de ácido graso en sistemas biológicos y así son útiles en el tratamiento de la obesidad y en condiciones correctoras de anomalías de los lípidos.
- 15.

- Las sales farmacéuticamente inaceptables de los compuestos de la fórmula I pueden convertirse en los compuestos de la fórmula I o en sales farmacéuticamente aceptables de los mismos por métodos conocidos.
- 20.

Los compuestos de la fórmula I y sus sales pueden prepararse según el presente invento por medio de un procedimiento que se caracteriza porque se reduce un compuesto de la fórmula



409 192



en la que R' representa un grupo de alquilo inferior, porque en la producción de un compuesto de la fórmula I, en donde R representa un átomo de hidrógeno, se hidroliza un compuesto obtenido de la fórmula I, en donde R repre-

5. senta un grupo de alquilo inferior, o una sal de adición de ácido respectiva, porque en la producción de un antípoda óptico de un compuesto de la fórmula I, se resuelve un racemato obtenido en sus antípodas ópticos y se aísla el antípoda deseado y porque, si se desea, se convierte un compuesto obtenido de la fórmula I en una sal.
- 10.

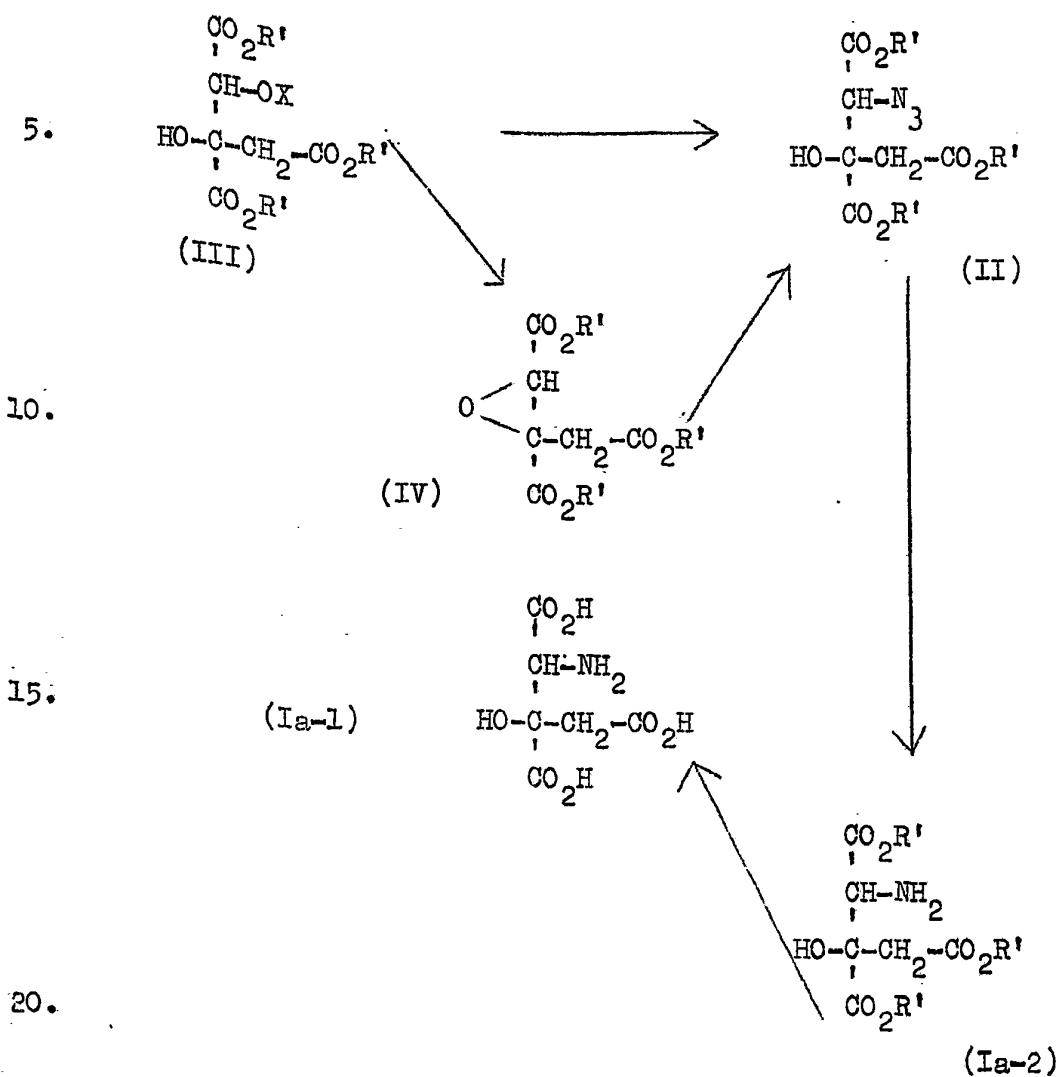
La preparación de los compuestos de la fórmula I, o sea, de las fórmulas Ia y Ib, así como también una forma posible para preparar los materiales de partida de la fórmula II, se ilustran en el esquema de reacción A. Las fórmulas estructurales aquí representadas no ilustran en que

15. se funda la estereoquímica relativa o absoluta de las moléculas particulares, sin embargo, puede comprenderse que todos los compuestos aquí descritos existen en dos formas estereoquímicas relativas: una forma treo y una forma eritro.
20. Para facilitar la descripción de las transformaciones estereoquímicas aquí referidas, la nomenclatura treo y la nomenclatura eritro se han adoptado como está definido por Cram et al., J. Amer. Chem. Soc., vol. 74, pág. 5828 (1952) y por Prelog et al., Experientia, vol. 12 pág. 81 (1956). Cada una de estas formas estereoquímicas relativas existe como un racemato y los dos antípodas ópticos, y las fórmulas aquí mostradas significa que incluyen todas las formas de isómeros y antípodas de los compuestos representados.
- 25.

409 192



Esquema de reacción A



en la que

R' representa un grupo de alquilo inferior y

X representa un grupo de alquilo inferior-sulfonilo o arilo-sulfonilo.

25.

La reducción de un azido alcohol de la fórmula II al amino-alcohol de la fórmula Ia-2 correspondiente se efectúa de preferencia por hidrogenación catalítica. Catalizadores apropiados son los catalizadores que comprenden metal,

409 192



como los de paladio, platino, rodio, niquel, etc. El catalizador puede carecer de soporte o hallarse sobre un soporte tal como carbón, amianto, sulfato de bario, carbonato de estroncio, etc. Un catalizador preferido es el paladio soportado en carbón. Como medio de reducción puede utilizarse cualquier disolvente orgánico inerte; por ejemplo, alcoholes (como el metanol o el etanol); éteres (como el tetrahidrofurano o el dioxano); hidrocarburos (como el hexano y el benceno), etc. Disolventes preferidos son los alcoholes inferiores, como el metanol o el etanol. Los parámetros de temperatura y presión no son estrictamente críticos. La temperatura puede oscilar desde más o menos la del ambiente hasta unos 100°, y la presión, desde la atmosférica hasta unas 50 atmósferas. Por lo general, se utiliza una temperatura

5. de alrededor a la del ambiente y una presión de unas 3 atmósferas. La reacción de hidrogenación puede llevarse a cabo en presencia de un ácido fuerte añadido, como un ácido mineral (por ejemplo, cloruro de hidrógeno), que sirve para captar la amina a medida que se forma. En la reacción de hidrogenación preferida se halla en la mezcla reaccional alrededor de un equivalente de ácido mineral.

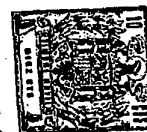
10. Los ácidos amino-cítricos de la fórmula Ia-2 pueden ser convertidos en los de la fórmula Ia-1 por hidrólisis de las funciones de éster. La hidrólisis puede efectuarse en medios acuosos, en presencia de un ácido fuerte o una base fuerte.

15. Pueden prepararse compuestos ópticamente activos de la fórmula I utilizando materiales de partida ópticamente activos, de la fórmula II por ejemplo o mediante resolución

20. Pueden prepararse compuestos ópticamente activos de la fórmula I utilizando materiales de partida ópticamente activos, de la fórmula II por ejemplo o mediante resolución

25. Pueden prepararse compuestos ópticamente activos de la fórmula I utilizando materiales de partida ópticamente activos, de la fórmula II por ejemplo o mediante resolución

409 192



óptica. Los compuestos de la fórmula Ia-2 pueden resolverse utilizando un ácido ópticamente activo, como por ejemplo un antípoda del ácido canforsulfónico, del ácido tartárico, etc.

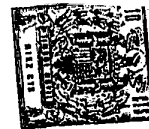
5. Como se representa en el esquema de reacción A, el ácido-alcohol, material de partida de la fórmula II puede obtenerse partiendo o del éster sulfonílico de la fórmula III o de un epóxido de la fórmula IV.

10. Un éster sulfonílico de la fórmula III puede convertirse a azido-alcohol de la fórmula II por tratamiento con una azida de metal alcalino, tal como, por ejemplo, azida sódica. La reacción puede realizarse en cualquier disolvente orgánico inerte, como por ejemplo, alcoholes inferiores, (como el metanol o el etanol); cetonas, (como la acetona); amidas orgánicas (como la N,N-dimetil-formamida); etc.

15. La temperatura de reacción puede alcanzar de unos 20 a 150° C. Una temperatura de reacción preferida está en la zona de aproximadamente 50 a unos 100°C. Sorprendentemente, se ha encontrado que el reemplazo del grupo de sulfoniloxilo por el grupo de azido se realiza con retención de configuración.

20. Así, por ejemplo, el treo-mesilato de la fórmula III proporciona la treo-azida de la fórmula II. Se ha encontrado que, durante el curso de la reacción, el epóxido de la fórmula IV es un intermediario, es decir, se realiza una inversión doble de la configuración que conduce a una retención neta de la configuración, así, por ejemplo, el treo-mesilato III pasa a eritro-epóxido IV que luego se abre para proporcionar la treo-azida II. El epóxido de la fórmula IV no se aisla normalmente durante la reacción pero se puede detectar su presencia por métodos espectrales y/o cromatográficos.

25.



Alternativamente, puede partirse del epóxido de la fórmula IV y tratarlo con una azida de metal alcalino bajo las condiciones de reacción arriba descritas para obtener la azida deseada de la fórmula II. Siguiendo el anterior razonamiento, el treo-epóxido proporciona la eritro-azida, etc.

5. Un epóxido de la fórmula IV puede obtenerse del éster de sulfonato de la fórmula III correspondiente por tratamiento con una base. Bases apropiadas incluyen, por ejemplo, las sales de ácidos alcanoicos inferiores, (como el acetato de sodio o el propionato de sodio); hidróxidos de metales alcalinos, (como el hidróxido de sodio); carbonatos de metales alcalinos (como el carbonato de sodio); hidruros de metales alcalinos, (como el hidruro de sodio); etc. La elección de los disolventes y de las temperaturas de reacción no son críticas y variarán en dependencia de la naturaleza de la base utilizada. Disolventes apropiados incluyen alcoholes inferiores, (como metanol o etanol); hidrocarburos, (como el benceno o el tolueno); etc. Cuando en cantidad de disolvente se utiliza un alcohol, se prefiere utilizar el alcohol correspondiente a la porción R' del compuesto de la fórmula IV de modo que no se realice trans-esterificación. Cuando se utiliza una base más fuerte que un alcóxido, se prefiere utilizar un disolvente aprótico tal como el benceno o el tolueno, de forma que no se verifique reacción entre la base y el disolvente. Combinaciones apropiadas de bases y disolventes incluyen, por ejemplo, el hidruro de sodio en benceno, el acetato de sodio en metanol, etc. La temperatura de reacción puede hallarse entre aproximadamente 20 y unos 150°. Puede emplearse una temperatu-
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.



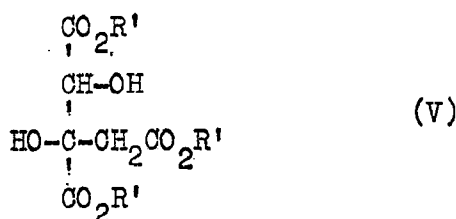
409 192

ra de reacción inferior cuando se utilice una base más fuerte y viceversa. Esta reacción de eliminación se realiza con inversión de configuración. Así el treomesilato proporciona el eritro-epóxido y el eritro-mesilato proporciona el treo-epóxido.

5.

Un éster de sulfonato de la fórmula III puede obtenerse del diol correspondiente de la fórmula

10.



en la que

R' tiene la significación anterior.

15.

Esto puede realizarse al funcionalizar selectivamente el grupo de hidroxilo secundario del diol de la fórmula V a un grupo partiente OX apropiado, en el que X es alquilo inferior-sulfonilo o arilo-sulfonilo, por reacción con un haluro de sulfonilo apropiado. Haluros de sulfonilo apropiados incluyen el cloruro de metansulfonilo, el cloruro de p-toluen-sulfonilo, el cloruro de p-bromobencensulfonilo, el cloruro de p-nitrobencensulfonilo, etc. En particular se prefiere el cloruro de metansulfonilo, en cuyo caso, el compuesto de la fórmula III es un éster de metansulfonato (mesilato). La esterificación se realiza apropiadamente en presencia de una base. Bases preferidas son las aminas orgánicas, (como la piridina, la trietilamina), etc. Un exceso de la amina puede servir en calidad de disolvente de reacción, o un disolvente orgánico inerte puede servir

20.

25.

409 192

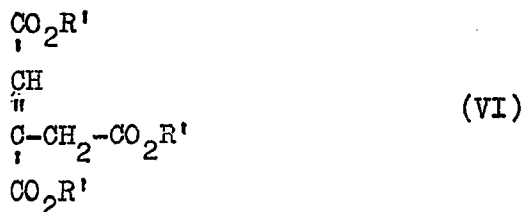


en calidad de diluyente. Los diluentes apropiados incluyen hidrocarburos, por ejemplo el benceno o el tolueno; éteres, por ejemplo el éter etílico o el tetrahidrofurano; hidrocarburos clorados, por ejemplo el cloruro de metileno; etc.

5. La temperatura de la reacción de esterificación puede encontrarse entre aproximadamente -20° a unos 50° C. Se prefiere una gama de temperatura de aproximadamente 0° a unos 20° C. En la reacción de esterificación no existe cambio en estereoquímica en el carbono que sostiene el hidroxilo secundario. Así, el treo-diol proporciona el treo-mesilato y el eritro-diol proporciona el eritro-mesilato.
- 10.

Puede obtenerse un diol de la fórmula V por cis-hidroxilación de un compuesto de la fórmula

15.



en la que

20.

R' tiene la significación anterior.

25.

La reacción de cis-hidroxilación puede realizarse al utilizar un peróxido en presencia de un catalizador de hidroxilación. Un peróxido especialmente preferido es peróxido de hidrógeno. Un catalizador de hidroxilación especialmente preferido es el tetróxido de osmio. El catalizador puede emplearse en cantidades pequeñas en comparación con el sustrato a ser hidroxilado, por ejemplo de aproximadamente 0,01 a unos 25 moles por ciento. Se prefiere aproximadamente 0,1 mol por ciento de catalizador de hidroxilación. La

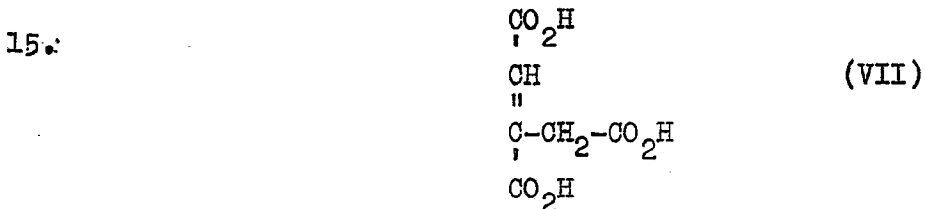
409 192



hidroxilación se realiza apropiadamente en cualquier disolvente acuoso o mezcla de disolventes. Cuando se utiliza tetróxido de osmio en calidad de catalizador de hidroxilación, se prefiere en general tratar la mezcla de reacción con un

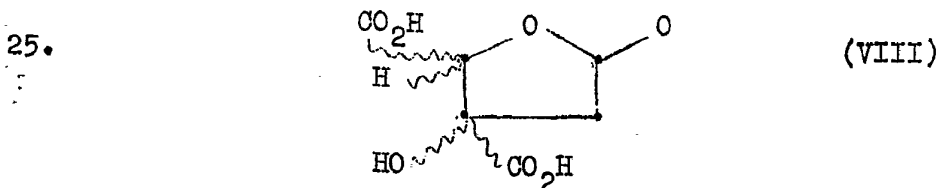
- 5. agente de reducción antes de la elaboración. Agentes reductores apropiados incluyen el sulfito de sodio, el bisulfito de sodio, el tiosulfato de sodio, etc. La temperatura de reacción de la reacción de hidroxilación puede estar en la gama de aproximadamente 0° a unos 100°C. Por ejemplo, si se utiliza un éster trans-aconítico de la fórmula VI, entonces se produce el treo-diol de la fórmula V.

Los ésteres de la fórmula VI así como también los ácidos correspondientes de la fórmula



- 20. de los que se pueden obtener fácilmente los citados ésteres, son compuestos conocidos.

Asimismo se pueden obtener los dioles de la fórmula V, partiendo de gamma-lactosa de ácido hidroxi-cítrico de la fórmula



por alcoholisis del anillo de lactona y esterificación con-

409 192



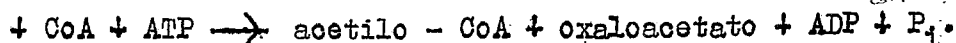
- comitante de los grupos de hidroxilo. En esta reacción, la gamma-lactosa se trata con el alcohol deseado, R'OH, en donde R' tiene la significación anterior, en presencia de un ácido. En un procedimiento preferido, el alcohol sirve en calidad de disolvente de reacción, aunque puede utilizarse cualquier disolvente orgánico inerte en calidad de diluyente. Acidos apropiados incluyen ácidos minerales, por ejemplo el ácido clorhídrico o el ácido sulfúrico; ácido sulfónico orgánico, por ejemplo el ácido p-toluensulfónico; etc. La temperatura de reacción puede estar en la gama de aproximadamente 50° a unos 100°C. Se puede utilizar una fuente de ácido mineral en lugar de un ácido mineral en esta reacción, por ejemplo puede adicionarse un haluro de ácido, tal como el cloruro de acetilo, a la mezcla de reacción que contiene el disolvente de alcohol para generar cloruro de hidrógeno in situ.
- 5.
- 10.
- 15.

- Los compuestos de la fórmula I son útiles para inhibir síntesis de ácido graso en sistemas biológicos. Los sistemas biológicos en los que pueden utilizarse los compuestos de la presente invención incluyen aquellos que contienen enzima disociadora de citrato. Los sistemas biológicos preferidos son los mamíferos, particularmente los mamíferos no rumiantes.
- 20.

- La inhibición de la síntesis de los ácidos grasos en los sistemas biológicos mediante el uso de los compuestos de la presente invención se cree que procede de la inhibición de la enzima disociadora de citrato contenida en dicho sistema. La disociación de citrato se cataliza por la enzima disociadora de citrato según la estequiometría: citrato
- 25.



409 192



- La conversión de los hidratos de carbono y diversos aminoácidos en grasa por los mamíferos no rumiantes, el citrato es la fuente principal de la co-enzima acetilica
5. A, la cual se utiliza para la síntesis de los ácidos grasos. El citrato se forma en el mitocondrio en virtud de la reacción de sintasa de citrato. Luego se la metaboliza pasando por el ciclo de ácido cítrico. En circunstancias en que la absorción de energía supera a la demanda de energía, algo de
10. citrato se desvía hacia el espacio extramitocóndrico de la célula, de donde se usa para la síntesis de los ácidos grasos, o sea para el almacenamiento de energía.

- Los nuevos compuestos de la fórmula I de la presente invención son así útiles en el tratamiento de la obesidad
15. y en la corrección de las anomalías de los lípidos. Los compuestos de la fórmula I pueden utilizarse también en la forma de sales atóxicas, aceptables farmacéuticamente. Cuando R es hidrógeno, puede formarse una sal con una base apropiada. Las sales apropiadas para este fin incluyen los metales alcalinos (por ejemplo, el sodio o el potasio); los metales alcalino-térreos (por ejemplo, el calcio); o las sales complejas, como las amónicas o las amónicas substituídas; por ejemplo,
20. una sal mono-, di- o tri-alquilamónica o una sal mono-, di- o tri-hidroxi-alquilamónica. Los compuestos de la fórmula Ia
25. pueden también formar sales con ácidos apropiados. Los ácidos preferidos incluyen los ácidos minerales (por ejemplo, el ácido clorhídrico), los ácidos orgánicos (por ejemplo, el ácido maleico y el ácido acético, etc.).

Estos compuestos pueden elaborarse en forma de pre-



- parados farmacéuticos tradicionales; por ejemplo, dichos compuestos pueden mezclarse con vehículos farmacéuticos inertes, orgánicos o inorgánicos, aptos para la administración parenteral o enteral; como, por ejemplo, agua, gelatina, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, aceites vegetales, gomas, etc. Se les puede administrar en formas farmacéuticas tradicionales, por ejemplo, en forma sólida, como pastillas, cápsulas, grageas, supositorios, etc., o formas líquidas, como soluciones, suspensiones o emulsiones. Además, las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de este invento pueden someterse a los expedientes farmacéuticos tradicionales, como la esterilización, y pueden contener excipientes farmacéuticos tradicionales, como agentes de conservación, estabilizadores, emulgentes, sales para ajustar la presión osmótica o amortiguadores. Las composiciones pueden contener también otros materiales de actividad terapéutica.
- 5.
- 10.
- 15.

Una unidad apropiada de dosificación farmacéutica puede contener de unos 15 a 600 mg del compuesto en cuestión.

- Los regímenes apropiados de dosificación parenteral para los mamíferos comprenden de 1 mg/kg, aproximadamente, a 25 mg/kg, aproximadamente por día. No obstante, para cualquier sujeto particular, los regímenes específicos de dosificación deben ajustarse según las necesidades individuales y el criterio profesional del facultativo que administre o supervise la administración de estos compuestos. Debe entenderse que las dosis aquí expuestas son únicamente demostrativas y que no implican en absoluto limitación del alcance de la práctica del invento.
- 20.
- 25.

La presente invención se ilustra más claramente por



medio de ejemplos que siguen. En ellos, todas las temperaturas están expresadas en grados centígrados.

Ejemplo 1

Preparación del clorhidrato del éster trimetílico del ácido

5. (±)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

- Una solución de éster trimetílico de ácido (±)-treo-1-azido-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico (9,9 g) en metanol (150 cc) conteniendo así clorhídrico concentrado (2,7 cc) se hidrogena por tres horas utilizando 10% de paladio sobre carbón (1,6 g) como catalizador. El catalizador se elimina por filtración y el filtrado se concentra hasta sequedad bajo presión reducida para dar un sólido blanco. La cristalización en metanol-éter proporciona el clorhidrato de (±)-treo-amina, punto de fusión 161-163°. El mismo sistema de disolvente proporciona la muestra analíticamente pura, punto de fusión 161-161,5°.

El éster trimetílico del ácido (±)-treo-1-azido-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico utilizado en el procedimiento anterior puede prepararse como sigue:

20. (a) A partir de (±)-treo-mesilato → A una solución agitada de éster trimetílico de ácido (±)-treo-mesiloxi-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico (13,12 g) en etanol (100 cc) se añade una solución de azida sódica (5,2 g) en agua (20 cc) y se calienta la mezcla en reflujo por 45 minutos. Luego se enfría la mezcla reaccional y se elimina la mayor parte del disolvente bajo presión reducida. Se distribuye el residuo utilizando cloroformo (2 x 250 cc) y agua (100 cc). Los extractos cloroformicos, combinados, se lavan con agua (100 cc) y luego se secan (MgSO₄) y se concentran hasta sequedad.



409 192

dad, lo que da la azida en forma de un aceite. Esta resulta idéntica a la obtenida de (\pm)-eritro-epóxido (véase a continuación).

5. (b) A partir del (\pm)-eritro-epóxido — A una solución de éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-1,2-epoxi-1,2,3-propan-tricarboxílico (éster trimetílico de ácido (\pm)-eritro-epoxiaconítico) (1,89 g) en etanol (20 cc) que contiene ácido acético (540 mg) se añade una solución de azida sódica (1,12 g) en agua (5 cc). La mezcla se calienta a reflujo por 25 minutos y luego se la enfría y se la concentra bajo presión reducida. El residuo resultante se recoge en cloroformo y la solución cloroformica se lava con agua (3 x). Las fases acuosas se vuelven a lavar con cloroformo y los extractos orgánicos, combinados, se secan ($MgSO_4$) y se evaporan bajo presión reducida, lo que da la azida en forma de un aceite. Este aceite, triturado con éter frío, da la azida en forma de un sólido blanco, de punto de fusión 43-46°. El material analíticamente puro se obtiene del mismo disolvente, punto de fusión 47-48°.
- 10.
- 15.

20. El treo-mesilato y el eritro-epóxido utilizado anteriormente pueden prepararse como sigue:

(a) Preparación de aconitato trans-trimetílico.

25. Se adiciona cloruro de acetilo (100 cc) a una solución enfriada de ácido trans-aconítico (100 g) en metanol (1500 cc). La solución se refluye por 3,5 horas y luego se enfría a la temperatura del ambiente. Se adiciona piridina suficiente (86 cc) para neutralizar la mezcla de reacción y luego se elimina la mayoría del disolvente bajo presión reducida. El aceite resultante se disuelve en cloruro de metileno y la so-



lución se lava a su vez con solución diluida de ácido clorhídrico, agua, solución diluida de bicarbonato sódico y finalmente agua. El extracto de cloruro de metileno se seca (MgSO_4) y se concentra bajo presión reducida para dar el éster trimetílico como un aceite amarillo pálido. Este material se destila bajo presión reducida para proporcionar el triéster como un líquido incoloro (punto de ebullición 110-112°; 0,6 mm).

5.

(b) Preparación del éster trimetílico del ácido (\pm)-treo-1,2-dihidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

10.

A una solución de aconitato trans-trimetílico (57 g) en acetona (300 cc) y agua (75 cc) se adiciona una solución de tetróxido de osmio en acetona (1%; 7,5 cc) seguido por peróxido de hidrógeno (30%; 37 cc). La solución agitada se lleva a reflujo y se mantiene a esta temperatura por 4 horas. La

15.

mezcla de reacción se enfría y se deja a temperatura ambiente por la noche, luego se adiciona bisulfito sódico suficiente (1 g) para separar el oxidante restante. El disolvente se elimina bajo presión reducida y el aceite residual se disuelve en agua (300 cc) y se le extrae con éter (4 x 250 cc).

20.

Las fases de éter se vuelven a lavar a su vez con agua (100 cc). El cloruro de sodio (130 g) se disuelve en las fases acuosas combinadas que luego se extraen con cloruro de metileno (5 x 300 cc). Los extractos combinados de cloruro de metileno se secan (MgSO_4) y se evaporan para dar un aceite viscoso.

25.

La cristalización del aceite en éter-hexano proporciona 29,3 g del (\pm)-treo-diol, punto de fusión 74-76°. La muestra analítica se obtiene de la misma mezcla de disolvente, punto de fusión 75-76°.

(c) Preparación del éster trimetílico del ácido (\pm)-treo-1-

409 192



mesilato de 2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

- Cloruro de metansulfonilo (4,5 cc; 57 milimoles) se adiciona a una solución enfriada (5°) del (\pm)-treo-diol preparada como anteriormente (12,0 g; 48 milimoles) en piridina
5. (100 cc) y la mezcla se mantiene a 0-5° por 2 horas. Luego se adicionan varios pedacitos de hielo a la mezcla de reacción y después de 5 minutos se vierte en una mezcla de hielo-agua (500 cc) que contiene ácido clorhídrico concentrado (110 cc). La solución ácida amarillo pálida se extrae con cloruro de metileno (3 x 200 cc) y las fases orgánicas se lavan a su vez con salmuera y con una solución saturada de bicarbonato sódico. Los extractos de cloruro de metileno secados ($MgSO_4$) se decoloran (carbón) y luego se evaporan hasta sequedad. La cristalización del residuo en cloruro de metileno-
10. hexano da cristales amarillos pálidos, punto de fusión 92-94°. El mesilato analíticamente puro se obtiene por cristalización en acetato de etilo-hexano, punto de fusión 91-93°.
15. El mesilato analíticamente puro se obtiene por cristalización en acetato de etilo-hexano, punto de fusión 91-93°.

(d) Preparación del éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-1,2-epoxi-1,2,3-propantricarboxílico [éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-epoxiaconítico]

- Una solución de (\pm)-treo-mesilato preparado como anteriormente (56,0 g) en metanol (800 cc) que contiene acetato de sodio (28,0 g) se refluje por 100 minutos y luego se enfría a la temperatura del ambiente. Un precipitado copioso que se ha formado durante la reacción, se elimina por filtración.
- 25.

Ejemplo 2

Preparación de clorhidrato del éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

Se hidrogena durante dos horas utilizando como cata-



409 192

5. lizador carbón paladiado al 10% (800 mg), una solución de éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-1-azido-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico (4,9 g) en metanol conteniendo ácido clorhídrico concentrado (1,33 cc). El catalizador se elimina por filtración de la mezcla reaccional. El filtrado se concentra bajo presión reducida y el sólido blanco resultante cristaliza en metanol-éter para proporcionar el clorhidrato de (\pm)-eritro-amina, de punto de fusión 153-155°. La recristalización en metanol-éter proporciona el material analíticamente puro, de punto de fusión 153-155°.

10. La (\pm)-eritro-azida utilizada anteriormente puede prepararse como sigue:

15. Se adiciona una solución de azida sódica (2,5 g) en agua (10 cc) a una solución de éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-1-mesiloxi-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico (6,56 g) en etanol (50 cc). La mezcla de reacción se calienta a temperatura de reflujo por 2 horas y luego se elimina la mayoría del disolvente bajo presión reducida. El residuo se disuelve en cloroformo y la solución se lava con agua (2 x), se seca ($MgSO_4$) y se concentra hasta sequedad para dar azida cruda. La azida pura se obtiene por cristalización en éter, de punto de fusión 70-71°.

20. El eritro-mesilato utilizado anteriormente puede prepararse como sigue:

25. (a) Preparación del éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-1,2-dihidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

Se adiciona cloruro de acetilo (21 g) a una solución de gamma-lactona de ácido (\pm)-eritro-hidroxicítrico (21 g) en metanol (400 cc). La solución se lleva a reflujo y se mantie

409 192



ne a esta temperatura por 90 minutos y luego se enfria y se deja por la noche a la temperatura ambiente. Se adiciona piridina suficiente (19 cc) para neutralizar la mezcla de reaccion y luego se elimina el disolvente bajo presión reducida.

5. El jarabe resultante se disuelve en agua (350 cc) y la solución se extrae con éter (5 x 100 cc). Los extractos etereos se lavan ulteriormente a su vez con agua (2 x 100 cc). Se disuelve cloruro de sodio (125 g) en las fases acuosas combinadas y la solución se extrae con cloruro de metileno (1 x 350 cc; 3 x 125 cc). A su vez se lavan los extractos de cloruro de metileno con salmuera y con solución saturada de bicarbonato de sodio. Los extractos de cloruro de metileno secos ($MgSO_4$) se concentran bajo presión reducida para proporcionar el éster trimetílico como un aceite viscoso.

15. (b) Preparación de éster trimetílico del ácido (\pm)-eritro-1-mesiloxi-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

- (\pm)-eritro-diol crudo (23,7 g) preparado como anteriormente se disuelve en piridina (200 cc) y se adiciona a la solución enfriada (5°) de cloruro metansulfonílico (7,2 cc). La
20. mezcla de reacción se almacena a 0-5° por 150 minutos y luego se vierte en una mezcla de hielo-agua (1:1) que contiene ácido clorhídrico concentrado (210 cc). La solución resultante se extrae con cloruro de metileno (4 x 200 cc) y luego se lavan las fases orgánicas a su vez con salmuera y con solución saturada de bicarbonato de sodio. Los extractos de
25. cloruro de metileno combinados se secan ($MgSO_4$), luego se decoloran (carbón) y se concentra bajo presión reducida para dar un aceite amarillo pálido. La trituración del residuo con éter proporciona mesilato crudo que reocrystaliza en clo-



ruro de metileno-hexano para dar 21,7 g de material puro, de punto de fusión 104-106°.

Ejemplo 3

Preparación del clorhidrato de éster trimetílico del ácido

5. 1(S),2(S)-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico [clorhidrato de (+)-treo-amina]

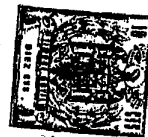
Se hidrogena por 3 horas utilizando paladio al,10% en carbón (1,0 g) como catalizador, una solución de éster trimetílico del ácido 1(S),2(S)-1-azido-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico (5,8 g) en metanol (150 cc) que contiene ácido clorhídrico concentrado (1,8 cc). Se elimina el catalizador por filtración de la mezcla de reacción y el filtrado se evapora luego bajo presión reducida. El residuo sólido resultante cristaliza en metanol-éter para proporcionar 3,8 g del clorhidrato de la amina, de punto de fusión 164-166°. La re-cristalización en la misma mezcla de disolvente proporciona la muestra analíticamente pura, de punto de fusión 164-166°; [alfa] + 14,83° (c, 0,97, CH₃OH).

10. La azida utilizada en el procedimiento anterior puede prepararse como sigue:

Una solución de azida sódica (2,5 g) en agua (10 cc) se adiciona a una solución agitada de éster trimetílico del ácido 1(S),2(S)-1-mesiloxi-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico[(-)-treo-mesilato](6,56 g) en etanol (50 cc). La mezcla de reacción se calienta a temperatura de reflujo por 45 minutos, luego se elimina la mayoría del disolvente bajo presión reducida. El residuo se diluye con agua y se extrae con cloroformo (2 x). Las fases orgánicas se lavan con agua, luego se combinan, se secan (MgSO₄) y se concentra bajo presión re-

15. 20. 25.

409 192



ducida para proporcionar la (-)-treo-azida cruda como un aceite; $[\alpha]_D^{25} = 54,0^\circ$ (c, 1.0 MeOH).

El treo-mesilato utilizado anteriormente puede prepararse como sigue:

5. (a) Preparación del éster trimetílico del ácido (-)-treo-1,2-dihidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

10. A una solución enfriada de gamma-lactama del ácido (+)-treo-hidroxicitrico (ácido de "garcinia"; 10 g) en metanol (200 cc) se adiciona cloruro de acetilo (10 cc). La solución se calienta a reflujo por 90 minutos y luego se enfría, a temperatura ambiente. Se adiciona piridina suficiente (9,0 cc) para neutralizar la mezcla de reacción y luego se elimina el disolvente bajo presión reducida. El residuo oleoso se dispersa en salmuera y se extrae con cloruro de metileno (5 x 15. 100 cc). Los extractos orgánicos se lavan a su vez con solución de ácido clorhídrico 1N y con solución saturada de bicarbonato de sodio. Los extractos se combinan, se secan ($MgSO_4$) y se concentra bajo presión reducida para dar éster trimetílico del diol crudo como un aceite.

20. (b) Preparación de éster trimetílico del ácido 1(S),2(S)-1-mesiloxi-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico [(-)-treo-mesilato]

25. Se adiciona cloruro metan-sulfonílico (3,55 cc) a una solución de (-)-treo-diol crudo preparada como anteriormente (11,7 g) en piridina (100 cc) previamente enfriada a $5-10^\circ$. La mezcla de reacción se mantiene a $0-5^\circ$ por 2,5 horas y luego se vierte en una mezcla agitada de hielo-agua que contiene 100 cc de ácido clorhídrico concentrado. La solución resultante se extrae con cloruro de metileno (4 x 200 cc) y los

409 192



extractos se lavan a su vez con salmuera (1 x) y bicarbonato sódico saturado (2 x). Los extractos combinados se secan (MgSO₄), se decoloran (carbón) y se concentran bajo presión reducida para dar el mesilato crudo como un aceite. La tritu-

5. ración del aceite con éter proporciona un sólido, de punto de fusión 83-86°. La recristalización de este material en cloruro de metileno-hexano proporciona el mesilato, de punto de fusión 89-91°. La muestra pura analíticamente se obtiene por cristalización en éter-hexano, de punto de fusión 89-91°

10. [alfa]_D²⁵ -8,38° (c, 0,75, CH₃OH).

Las formulaciones farmacéuticas que siguen están ilustradas con el clorhidrato del éster trimetílico del ácido (±)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico.

15. Estas formulaciones son aplicables a todos los compuestos de la fórmula Ia y de la fórmula Ib.

Ejemplo 4

Las cápsulas de la composición que sigue se preparan en forma convencional:

Por cápsula

20.	Clorhidrato de éster trimetílico de ácido (±)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico	250 mg
	Lactosa	60 mg
	Almidón de maíz	35 mg
25.	Estearato de magnesio	<u>5 mg</u>
	Peso total	350 mg

Ejemplo 5

Se preparan en la forma convencional las pastillas de la composición siguiente:

409 192



Por pastilla

	Clorhidrato de éster trimetílico de ácido (±)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantri- carboxílico	200 mg
5.	Dihidrato de fosfato dicálcico, sin moler	235 mg
	Almidón de maíz	70 mg
	Amarillo FD & C núm. 5 - Aluminum Lake 25%	2 mg
	Durkee 117	25 mg
	Estearato cálcico	<u>3 mg</u>
10.	Peso total	535 mg

Ejemplo 6

Se preparan en forma convencional cápsulas de la composición siguiente:

Por cápsula

15.	Clorhidrato de éster trimetílico de ácido (±)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propan- tricarboxílico	50 mg
	Lactosa	125 mg
	Almidón de maíz	30 mg
20.	Talco	<u>5 mg</u>
	Peso total	210 mg

Ejemplo 7

Se preparan en forma convencional pastillas de la composición siguiente:

Por pastilla

25.	Clorhidrato de éster trimetílico de ácido (±)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantri- carboxílico	25 mg
	Dihidrato de fosfato dicálcico, sin moler	175 mg



409 192

Almidón de maiz	24 mg
Estearato de magnesio	<u>1 mg</u>
Peso total	225 mg

Ejemplo 8

5. Se preparan en forma convencional pastillas de la composición siguiente:

	<u>Por pastilla</u>
Clorhidrato de éster trimetílico de ácido (\pm)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propan- 10. tricarboxílico	100 mg
Lactosa	202 mg
Almidón de maiz	80 mg
Almidón de maiz prehidrolizado de calidad alimenticia	20 mg
15. Estearato de calcio	<u>8 mg</u>
Peso total	410 mg

Ejemplo 9

Se preparan en forma convencional pastillas de la composición siguiente:

	<u>Por pastilla</u>
20. Clorhidrato de éster trimetílico de ácido (\pm)-treo-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantri- carboxílico	500 mg
Almidón de maiz	30 mg
25. Lactosa	88 mg
Gelatina	12 mg
Talco	15 mg
Estearato de magnesio	<u>5 mg</u>
Peso total	650 mg

409 192

Ejemplo 10

Medición de la lipogénesis en vivo.

5. A unas ratas hembras de Charles River, que pesaron de 120 a 150 g, se les dió libre acceso al agua y se las alimentó con una dieta comercial antes de la iniciación del experimento. Cada grupo experimental de animales se sometió a ayuno previo por 2 días y luego se alimentó con una sola comida diaria, de 9 a 12 de la mañana, por 7 a 13 días. Las comidas se componían de un 70% de dieta de glucosa sin grasa

10. (G-70) que contenía 70% de glucosa, 24% de caseína sin vitaminas, 5% de sal y 1% de vitaminas, a las que se añadieron 40 g de celulosa por kg.

15. En el último día de la alimentación, 60 minutos antes de la comida, se administró por tubo estomacal el derivado de ácido amino cítrico en ASV de la composición: cloruro sódico, 0,9%; carboximetilcelulosa, 0,5%; alcohol bencílico, 0,86%; y Tween 80 (monooleato de polioxietilensorbitán), 0,39%. Inmediatamente después de la comida, se anestesiaron ligeramente las ratas con Penthrane (metoxiflurano) y se inyectaron en la vena de la cola con 0,25 cc de una solución

20. de la composición siguiente: 12,3 mg de alanina, 5 microC de ¹⁴C-alanina (actividad específica = 156 mC/milimol) en forma de precursor de ácido graso y 30,6 mg de alfa-octoglutarato en forma de un aceptor de transaminasa disuelto en solución salina a pH 7,4 - 7,6. Al cabo de 30 minutos se sacrificaron

25. las ratas por decapitación y se seccionaron sus hígados, se pesaron rápidamente, se desmenuzaron en 15 cc de agua y se homogeneizaron en un homogeneizador Potter-Elvehjem con 5 carreras de un almirez de teflón impulsado por una mandrinadora. Alicuotas duplicadas de 3 cc de homogeneatos de hígado

409 192



entero se añadieron a tubos que contenían 2,1 cc de NaOH 5N, se saponificaron con 2,6 cc de H₂SO₄ 5N y se extrajeron dos veces con 5 cc de éter de petróleo (de punto de ebullición de 40 a 60°C). Las materias sobrenadantes se añadieron direc-

- 5. tamente a frascos contadores de vidrio, se evaporó hasta sequedad y se añadieron 10 cc de fluido de escintilación de tolueno-PPO-POPOP. Se analizaron muestras en un contador de escintilación Packard Tri-carb, para determinar la actividad absoluta. Los datos resultantes se expresaron en nanomoles de ¹⁴C-alanina incorporados/gramo de tejido/30 minutos.

El clorhidrato de éster trimetílico de ácido 1(S), 2(S)-1-amino-2-hidroxi-1,2,3-propantricarboxílico, cuando se administró a 2,63 milimoles/kg en ASV, dió los resultados siguientes:

15.	Nanomoles de ¹⁴ C-alanina/g <u>de hígado/30 minutos</u>	Inhibición <u>porcentual</u>
	740.4 ± 76.2 SEM (10 ratas)	28

= . =

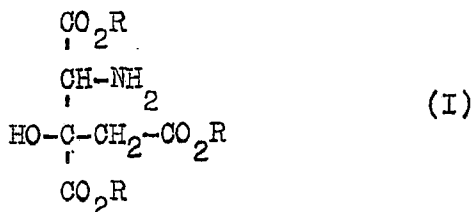
REIVINDICACIONES

20.

Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de la solicitud de patente estadounidense serial nº 204.290 del 2.12.71.

25.

1.- Procedimiento para la preparación de derivados del ácido cítrico, de la fórmula



409 192

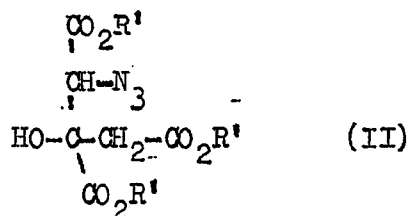


en la que

R representa un átomo de hidrógeno o un grupo de alquilo inferior,

y sus sales, caracterizado en que se reduce un compuesto

5. de la fórmula



10. en la que R' representa un grupo de alquilo inferior, y, en el caso de que en la fórmula I, R represente un átomo de hidrógeno, se hidroliza el compuesto obtenido de la fórmula I, en donde R representa un grupo de alquilo inferior, o una sal de adición de ácido respectiva, y, finalmente

15. en la formación de un antípoda óptico de un compuesto de la fórmula I, se resuelve un racemato obtenido en sus antípodas ópticos y se aísla el antípoda deseado y, si se desea, se convierte un compuesto obtenido de la fórmula I en una sal.

20. 2. Procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque, en una forma de su realización, cuando en la fórmula I, R es hidrógeno, su formación y la de sus sales, se verifica reduciendo un compuesto de la fórmula II, e hidrolizando un compuesto obtenido de la fórmula I, en donde R es alquilo inferior, o una sal de adición de ácido respectiva.

25. 3. Procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque, particularmente, cuando en



409 192



la fórmula I, R es metilo, para su formación o la de sus sales, se utiliza como material de partida un compuesto de la fórmula II, en donde R' es metilo.

4. Procedimiento, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado especialmente porque en la formación del treo-isómero de un compuesto de la fórmula I o de una sal respectiva, se utiliza como material de partida el treo-isómero de un compuesto de la fórmula II.

5. Procedimiento, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado, también especialmente, porque en la formación del eritro-isómero de un compuesto de la fórmula I o de una sal respectiva, se utiliza como material de partida el eritro-isómero de un compuesto de la fórmula II.

6. Procedimiento para la preparación de derivados del ácido cítrico.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 28 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 1 de Diciembre de 1971
p.a.

JAIME ISERN
p.p.

Enmado: JOSE F. NIETO

