



413737

13737

F.C-18-4-75

Int. Cl.: C07C 11 A 61 K

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: MERCK & CO., INC.

RESIDENCIA: 126 East Lincoln Avenue, RAHWAY,
New Jersey, USA

ENUNCIADO: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION
DE COMPUESTOS DE ACIDO L- α -HIDRAZI-
NO- β -FENILPROPIONICO.

Prioridad: Patente estadounidense n.º 886.371 del 18-12-69
(Como divisional de la solicitud de patente n.º
386.368 del 11-12-70)

IN.-

413737

- 2 -



1 Esta invención se refiere a un procedimiento para la
preparación de un compuesto de ácido L- α -hidrazino- β -fenil-
propiónico y a un agente terapéutico conteniendo dicho com-
puesto activo.

5 Los compuestos preparados por el procedimiento de la
invención son valiosos agentes terapéuticos, anteriormente
desconocidos y están representados por la fórmula general
dada en la Reivindicación 1. Los racematos de los ácidos
10 α -hidrazino- α -sustituído- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónicos y
sus ésteres son conocidos en la técnica y se sabe que son
potentes inhibidores de la descarboxilasa en los mamíferos.
Véase Sletzinger et al "Journal of Medicinal Chemistry", vo-
lumen 6, pág. 101 (1963) y Porter et al "Biochemical Pharma-
cology", Volumen 11, pág. 1067 (Noviembre 1962). Estos com-
15 puestos han encontrado uso como medicamentos.

 La presente invención se basa en el descubrimiento de
que el isómero D del racemato es inactivo y hasta cierto pun-
to incluso antagonista de la acción de la forma L, que es el
compuesto activo. Así, en algunos ensayos se observó que la
20 forma L del compuesto es la única forma activa y que la for-
ma D es inactiva. En otros ensayos se observó que la forma D
contrarresta y menoscaba la acción de la forma L. Por lo
tanto, el objeto de la presente invención es proporcionar la
forma L pura, que se ha encontrado que es un inhibidor de
25 descarboxilasa mucho más potente que el compuesto previamen-
te conocido.

 La inhibición de la descarboxilasa en mamíferos consti-
tuye una parte importante de la acción fisiológica de muchos
tipos de drogas. Por ejemplo, recientemente se ha propuesto
30 utilizar L-dopa en el tratamiento de la enfermedad de Par-



1973

413737

1 kinson. Sin embargo, la L-dopa se utiliza en el cerebro y
en las partes periféricas del organismo y es conveniente
que solamente sea utilizada en el cerebro. Los presentes
5 compuestos de hidrazina no atraviesan la barrera sanguínea
del cerebro y por lo tanto inhiben solamente la descarboxi-
lase en las partes periféricas del cuerpo. Así, cuando se
emplea L-dopa en combinación con los compuestos de hidrazi-
na de la presente invención, la descarboxilasa de la L-dopa
es inhibida solamente en las partes periféricas del cuerpo
10 dejando una mayor cantidad disponible para el cerebro. El
resultado es que se requiere una cantidad mucho menor de L-
dopa para una medicación efectiva.

La inhibición de la descarboxilasa es también de im-
portancia en el tratamiento de ciertos trastornos del colon.
15 En algunas personas, las células de los intestinos, y quizá
de todo el organismo, desarrollan una superactividad en la
producción de serotonina a partir de 5-hidroxitriptófano.
El resultado de esta abundancia de serotonina es una inun-
dación constante del colon y evacuación de los intestinos.
20 A no ser que se controle este estado, puede transformarse
en una dolencia mucho más grave. Los inhibidores de descar-
boxilasa impiden la formación de la serotonina y por lo tan-
to controlan la diarrea. Los inhibidores potentes de descar-
boxilasa, como los compuestos hidrazínicos utilizados en es-
25 ta invención, especialmente los que no tienen alguna otra
actividad fisiológica, están peculiarmente adaptados a esta
aplicación.

Los citados compuestos no solamente inhiben la dioxi-
fenilamina descarboxilasa sino también la histidina descar-
boxilasa. Por lo tanto, también puede considerarse su uso
30

413737

- 4 -



10 ABR. 1973

1 como antihistamínicos.

Los compuestos, como ya se ha mencionado, están representados por la fórmula general dada en la Reivindicación 1. Son especialmente adecuados los compuestos que en las posiciones α del ácido propiónico contienen hidrógeno o un grupo metilo o etilo. Así, el compuesto ácido L- α -hidrazino- α -hidrógeno- o alquil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico es activo cuando se administra a mamíferos en una proporción comprendida entre 0,05 y 100 mg/kg por día.

10 Los compuestos también pueden ser utilizados en forma de sales farmacéuticamente aceptables, como sales de metales alcalinos o de amonio del grupo carboxi o hidroccloruros, hidrobromuros, sulfatos y sales similares de la función amino. Sin embargo, preferiblemente se utilizan los aminoácidos libres y no las sales.

15 La actividad biológica de los compuestos ha sido demostrada mediante los siguientes ensayos:

Determinación de la inhibición de descarboxilasa en mamíferos

20 Se utilizan ratones albinos hembras con un peso comprendido entre 18 y 22 g cada uno. Los animales reciben 80 mg/kg de L-dopa (L-3,4-dihidroxifenilalanina) en combinación con la dosis indicada de ácido L- α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico, por vía oral, en solución o suspensión en agua. Los animales son decapitados 90 minutos más tarde. Se extraen los cerebros y se reúnen en grupos de 7. Se utilizan tres grupos distintos para cada tratamiento con la droga y se halla el promedio de los valores obtenidos.

30 Los cerebros son homogeneizados con ácido perclórico



1 0,4 N, 9 ml por gramo de tejido. Las catecolaminas y los
catecolaminoácidos son adsorbidos en alúmina y después elui-
dos. La dopa y la dopamina se separan por cromatografía uti-
lizando una columna que contiene la resina cambiadora de
5 ión "Amberlite CG-50" con un tamaño de 200-400 mallas. Des-
pués la dopa y la dopamina son sometidas a oxidación con
yodo para la determinación fluorimétrica de dopa y dopamina
(Porter, C.C., Totaro, J.A. y Bercin, A.J. Pharmac. Exp.
Therap. 150 17 (1965).

10 Se incluyen unos grupos de ratones de control y el
valor medio para cada una de las tres pruebas se encuentra
en la Tabla I.

TABLA I

	<u>Dosis</u> <u>mg/kg</u>	<u>Dopa</u> <u>microgramos/g</u>	<u>Dopamina</u> <u>microgramos/g</u>
15 Control	-	0,05	1,30
Racemato	20	3,60	3,05
Forma L	10	2,85	2,68

20 Como indica esta Tabla, 10 mg del compuesto L tienen
aproximadamente la misma actividad que 20 mg del compuesto
DL (racemato) en los animales de ensayo. En otras palabras,
la forma L presenta esencialmente una actividad doble de la
del racemato en este ensayo.

25 Comparación entre el racemato y los isómeros D y L del áci-
do α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico en
cuanto a su capacidad para potenciar la inversión por L-do-
pa de la supresión inducida por la reserpina de la locomo-
ción y la ptosis

30 Los ratones se alojan en ratoneras de plástico trans-
parente y se aclimatan a su ambiente durante la noche. Una

413737



1 hora después de la administración intraperitoneal de reser-
pina (4 mg/kg) se administran por vía oral varias dosis del
racemato, el isómero L o el isómero D del ácido α -hidrazino-
 α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)-propiónico en methocel (agen-
5 te suspensor - metilcelulosa al 1 % en agua). Se administran
150 mg/kg de L-dopa por vía intraperitoneal 2 horas después
de la reserpina y se examina en los ratones, a ciegas, la
supresión de la locomoción y la presencia de ptosis 1 hora
más tarde. La supresión de la locomoción se determina colo-
10 cando a los ratones, individualmente, en el centro de una
rejilla de alambre de 8 x 10 pulgadas (20 x 25 cm) durante
15 segundos. Si el ratón no camina hasta el borde de la re-
jilla o se sale de ella (lo que normalmente ocurre en menos
del 15 % de los ratones reserpinizados), se considera supri-
15 mida la locomoción. Los ratones no reserpinizados invaria-
blemente caminan por la rejilla o se salen de ella dentro
de este periodo de tiempo. La ptosis se califica positiva
si se produce un cierre del 50 % o más de los párpados.

20

25

30



1973

13737

TABLA II

Comparación del efecto de los isómeros D y L de ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico sobre el antagonismo de la L-dopa contra la supresión inducida por la reserpina de la locomoción y la ptosis

Tratamiento previo ^a	Dosis (mg/kg p.o.)	Supresión de la locomoción inducida por la reserpina Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados	Supresión de la ptosis inducida por la reserpina Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados
Methocel	-	1/10	1/10
Isómero D + methocel	5,0 25,0 125,0	1/10 2/10 2/10	1/10 2/10 3/10
Isómero L + methocel	0,2 1,0 5,0 ^b	3/10 5/10 8/10	2/10 7/10 9/10
DE ₅₀ ^c		0,86 mg/kg	0,56 mg/kg

a - Una hora antes de la L-dopa, 150 mg/kg i.p.

b - Esta dosis de ácido L- α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico es inactiva como antagonista de la reserpina cuando se administra antes del methocel.

c - Dosis calculada de ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico, cuando se administra en combinación con L-dopa (150 mg/kg i.p.), necesaria para antagonizar estos efectos de la reserpina en el 50 % de los ratones.



1978

413737

TABLA III

Comparación del efecto del racemato y del isómero L de ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico sobre el antagonismo de la L-dopa frente a la supresión inducida por la reserpina de la locomoción y de la ptosis

Tratamiento previo ^a	Dosis (mg/kg p.o.)	Supresión de la locomoción inducida por la reserpina Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados	Supresión de la ptosis inducida por la reserpina Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados.
Methocel	-	7/70	8/70
Isómero L	0,07	4/30	5/30
+ methocel	0,22	10/70	16/70
	0,67	20/70	23/70
	2,0	45/70	44/70
	6,0	33/40	34/40
	DE ₅₀ ^b	1,2 mg/kg (0,5-2,9)	1,0 mg/kg (0,5-1,8)
Racemato	0,67	11/70	10/70
+ methocel	2,0	29/70	30/70
	6,0	49/70	50/70
	18,0	63/70	62/70
	DE ₅₀ ^b	2,9 mg/kg (2,4-3,5)	2,8 mg/kg (2,2-3,8)

a - Una hora antes de la L-dopa, 150 mg/kg i.p.

b - Dosis calculada de ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico, cuando se administra en combinación con L-dopa (150 mg/kg i.p.) necesaria para antagonizar estos efectos de la reserpina en el 50 % de los ratones. Los valores entre paréntesis se refieren a los intervalos del 95 % de confianza.

Las Tablas II y III muestran el efecto de la L-dopa (150 mg/kg i.p.) sobre la supresión inducida por la reserpina de la locomoción y de la ptosis en ratones tratados previamente con varias dosis del racemato y de los isómeros

413737



1 D y L del ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)-
propiónico. Esta dosis de L-dopa (150 mg/kg i.p.) es ine-
ficaz como antagonista de la reserpina en ratones previamen-
te tratados con methocel. Las dosis del racemato y de los
5 isómeros D y L de ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidro-
xifenil)propiónico necesarias para antagonizar las acciones
supresora de la locomoción y de ptosis de la reserpina en el
50 % de los ratones (DE_{50}), cuando se administran en combi-
nación con L-dopa (150 mg/kg), son calculadas a partir de
10 las líneas de regresión ajustadas hasta la fecha.

El isómero D del ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-
dihidroxifenil)propiónico presenta poca o ninguna capacidad
para potenciar cualquiera de estos efectos de la L-dopa en
los ratones reserpinizados ($DE_{50} > 125,0$ mg/kg). La compa-
15 ración de los valores DE_{50} para el racemato y el isómero L
del ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propió-
nico indica que el isómero L (DE_{50} 1,2 mg/kg) es aproximada-
mente 2,4 veces más activo que el racemato (DE_{50} 2,9 mg/kg)
en la potenciación de la inversión por L-dopa de la supre-
sión inducida por la reserpina de la locomoción. Con respec-
20 to al antagonismo de la ptosis inducida por la reserpina,
se ha encontrado que el isómero L (DE_{50} 1,0 mg/kg) es apro-
ximadamente 2,8 veces más activo que el racemato (DE_{50}
2,9 mg/kg).

25 Según el procedimiento de acuerdo con esta invención,
el material de partida es un derivado α -ureido que se hace
reaccionar con un agente halogenante y una base. Esta reac-
ción se efectúa preferiblemente en un medio de reacción acuo-
so, a una temperatura entre 0° y 125°C . Como ejemplos de
30 agentes halogenantes adaptados para este fin podemos mencio-

413737

- 10 -



1973

1 nar el bromo, el yodo o el cloro. Otros ejemplos son el
ácido hipocloroso, hipocloritos de metales alcalinos,
N-haloamidas como N-cloroacetamida, N-clorosuccinimida,
N-clorocaprolactama, N-clorourea, N-clorohidantoína y los
5 análogos N-bromo y N-yodo de estos compuestos. Todos estos
agentes halogenantes pueden ser utilizados con una base
acuosa. Son ejemplos de agentes halogenantes inestables en
mezcla acuosa el perbromuro de piridinio, hipocloritos de
alquilo como hipoclorito de terc-butilo y estos agentes ha-
10 logenantes pueden ser utilizados preferiblemente, por lo
tanto, en un disolvente inerte como dioxano, hexano, cloro-
formo, tetracloruro de carbono o un alcohol, después de lo
cual puede agregarse una base acuosa.

15 Entre las bases adecuadas podemos mencionar los hi-
dróxidos de metales alcalinos y de metales alcalino-térreos,
como hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido cálcico,
hidróxido de litio, hidróxido de rubidio, hidróxido de
cesio e hidróxido de bario, además de los carbonatos y otras
sales básicas de estos compuestos. También pueden utilizarse
20 el hidróxido amónico y las aminas alifáticas, aromáticas y
heterocíclicas. Son ejemplos de estas aminas la trietilami-
na, N,N-dietilanilina, N,N,N',N'-tetraetiletildiamina, pi-
ridina, picolinas, lutidinas, colidinas u otras aminas orgá-
nicas terciarias.

25 El procedimiento de acuerdo con la invención será ex-
plicado ahora mediante los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

A. Preparación de ácido L- α -metil- α -ureido- β -(3,4-dimetoxi- fenil)propiónico

30 Se forma una solución de 44 g (0,16 moles) de hidro-

413737

- 11 -



1973

1 cloruro de ácido L- α -metil- α -amino- β -(3,4-dimetoxifenil)-
propiónico, disolviendo el material en 440 ml de agua ca-
lentando suavemente. La solución se enfría rápidamente a
5°C y se añaden en pequeñas porciones 77,6 g (0,96 moles)
5 de cianato potásico. Después la suspensión se calienta a
60°C durante 4 horas y se filtra. Se enfría el filtrado y
se acidula a pH 1 con ácido clorhídrico concentrado. El pre-
cipitado cristalino se filtra, se lava con agua y se seca
a 50°C, dando un rendimiento de 34,5 g (76,44%) de ácido
10 L- α -metil- α -ureido- β -(3,4-dimetoxifenil)propiónico. Por re-
cristalización en etanol-agua, se obtiene un producto con
un p.f. de 205-207°C.

Análisis calculado para $C_{13}H_{18}N_2O_5$:

C, 55,31; H, 6,43; N, 9,92

15 Encontrado: C, 55,56; H, 6,52; N, 9,99.

B. Preparación de ácido L- α -metil- α -hidrazino- β -(3,4-dimeto-
xifenil)propiónico

A una solución enfriada con hielo de 2,2 g (7,8 mili-
moles) del ácido L- α -metil- α -ureido- β -(3,4-dimetoxifenil)pro-
piónico del Procedimiento A en 15,6 ml de hidróxido potási-
20 co 2,5 N, se añade una solución 0,71 N de hipoclorito sódico
(13,7 ml, 9,75 milimoles). Cinco minutos después de com-
pletada la adición, la solución se calienta a 80° durante
hora y media. Transcurrido este periodo, se añaden 45 ml de
25 tolueno y 0,8 ml de hidrato de hidrazina y la mezcla se agi-
ta intensamente mientras se añaden 8 ml de ácido clorhídri-
co concentrado. La mezcla se agita a 80° durante 30 minutos,
después se separan las fases y la capa acuosa se extrae con
25 ml de tolueno. La solución acuosa se evapora a sequedad
30 y la mezcla salina resultante se digiere con etanol. La so-

413737

14 APR



1 lución alcohólica se neutraliza a pH 6,4 con dietilamina y
el producto precipitado se filtra, se lava con etanol y se
seca dando 1,25 g de ácido L- α -metil- α -hidrazino- β -(3,4-
5 dimetoxifenil)propiónico, con un rendimiento del 60 %. Por
recristalización en agua se obtiene un producto con un p.f.
de 222-224^o (desc.).

[α]_D^{sol. AlCl₃} -24,6^o

Análisis calculado para C₁₂H₁₈O₄N₂:

C, 52,93; H, 7,40; N, 10,29

10 Encontrado: C, 53,01; H, 7,46; N, 10,28.

EJEMPLO 2

A. Preparación de ácido L- α -etil- α -ureido- β -(3,4-dimetoxi-
fenil)propiónico

15 A una solución de 0,47 moles de ácido L- α -etil- α -
amino- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico y 600 mg de bisulfito
sódico en 500 ml de agua, se añaden 57,6 g de cianato
potásico y la solución se calienta a 60^oC en atmósfera de
nitrógeno durante 1 hora. Después se añade otra porción de
20 57,6 g de cianato potásico y se continúa calentando durante
2 horas. El producto de reacción es metilado sin aislar de
la forma siguiente: Se destila agua de la mezcla de reacción
hasta que deja de detectarse el amoníaco. El residuo se di-
luye hasta el volumen original, se añaden 20 ml de solución
25 8 N de hidróxido potásico y se enfría a 15^oC. La solución
se agita bien mientras se añaden simultáneamente 566 ml de
solución 8 N de hidróxido potásico y 376 ml (3,6 moles) de
sulfato de dimetilo, a velocidad suficiente para mantener la
temperatura por debajo de 20^oC. La adición requiere alrede-
30 dor de 1 hora. La solución se acidula a pH 2 con ácido clor-



1 hídrico y el producto precipitado se separa por filtración.
Después de lavar con agua y secar, se obtiene el ácido
L- α -etil- α -ureido- β -(3,4-dimetoxifenil)propiónico con un
rendimiento del 70 %. Después de recrystalizar en etanol-
5 agua, el p.f. es 218-220°C.

Análisis calculado para $C_{14}H_{20}N_2O_5$:

C, 56,74; H, 6,80; N, 9,45

Encontrado: C, 56,71; H, 6,88; N, 9,53

10 B. Preparación de ácido L- α -etil- α -hidrazino- β -(3,4-dime-
toxifenil)propiónico

A una solución enfriada con hielo de 7,8 milimoles
del ácido L- α -etil- α -ureido- β -(3,4-dimetoxifenil)propiónico
del Procedimiento A en 15,6 ml de hidróxido potásico 2,5 N
se añade una solución de 13,7 ml (9,75 milimoles) de hipoclorito
15 sódico 0,71 N. Cinco minutos después de completada
la adición, la solución se calienta a 80°C durante hora y
media. Transcurrido este periodo, se añaden 45 ml de tolueno
y 0,8 ml de hidrato de hidrazina y la mezcla se agita inten-
samente mientras se añaden 8 ml de ácido clorhídrico concen-
20 trado. La mezcla se agita a 80°C durante 30 minutos, después
se separan las fases y la capa acuosa se extrae con 25 ml
de tolueno. La capa acuosa se evapora a sequedad y la mez-
cla resultante de sales se digiere con etanol. Se neutrali-
za la solución alcohólica a pH 6,4 con dietilamina y el pro-
25 ducto precipitado se filtra, se lava con etanol y se seca
dando ácido L- α -etil- α -hidrazino- β -(3,4-dimetoxifenil)pro-
piónico con un rendimiento del 53 %. Se recrystaliza una
muestra en agua dando un p.f. de 215-220°C.

30 Análisis calculado para $C_{13}H_{20}O_4 \cdot N_2$:



413737

1

C, 58,19; H, 7,51; N, 10,44

Encontrado: C, 58,16; H, 7,60; N, 10,40

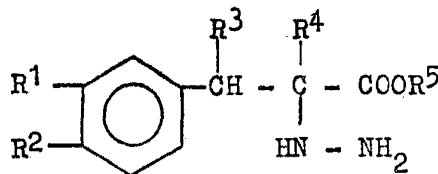
En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

5

REIVINDICACIONES

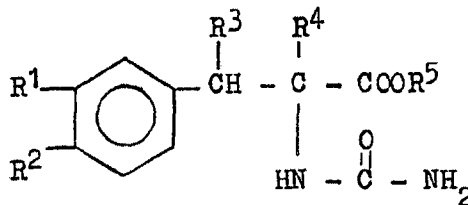
1. Un procedimiento para la preparación de compuestos de ácido L-α-hidrazino-β-fenilpropiónico de fórmula general

10



caracterizado por hacer reaccionar con un agente halogenante y una base el L-isómero de un compuesto de fórmula:

15



donde R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ tienen el significado atribuido anteriormente.

20

2. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la patente de invención que se solicita: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE COMPUESTOS DE ACIDO L-α-HIDRAZINO-β-FENILPROPIONICO.

25

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre

=====

30

Handwritten signature

=====

413737

-15 -

14 ABR.



1 sente memoria descriptiva que consta de quince páginas me-
-canografiadas.

Madrid, 14 de Abril de 1.973

BERNARDO UNGRIA

P.P.

5

10

15

20

25

30