



413738

Int. Cl.: C07C/A61K

F.P. 21-4-75

413738

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 canadiense n.º 78.420 del 25-3-70

(Como divisional de la solicitud de patente n.º 386.368 del 11-12-70)

IN-

413738



1 Esta invención se refiere a un procedimiento para la
preparación de compuestos 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 mamí-
feros. Véase Sletzinger et al "Journal of Medicinal Che-
mistry", volumen 6, pág. 101 (1963) y Porter et al "Bioche-
mical Pharmacology", Volumen 11, pág. 1067 (Noviembre 1962).
15 Estos compuestos han encontrado uso como medicamentos.

 La presente invención se basa en el descubrimiento
de que el isómero D del racemato es inactivo y hasta cier-
to punto incluso antagonista de la acción de la forma L,
que es el componente activo. Así, en algunos ensayos se
20 observó que la forma L del compuesto es la única forma ac-
tiva y que la forma D es inactiva. En otros ensayos se ob-
servó que la forma D contrarresta y menoscaba la acción
de la forma L. Por lo tanto, el objeto de la presente inven-
ción es proporcionar la forma L pura, que se ha encontrado
25 que es un inhibidor de descarboxilasa mucho más potente
que el compuesto previamente conocido.

 La inhibición de la descarboxilasa en mamíferos cons-
tituye una parte importante de la acción fisiológica de
muchos tipos de drogas. Por ejemplo, recientemente se ha
30

413738



1 propuesto utilizar L-dopa en el tratamiento de la enferme-
dad de Parkinson. Sin embargo, la L-dopa se utiliza en el
cerebro y en las partes periféricas del organismo y es con-
veniente que solamente sea utilizada en el cerebro. Los
5 presentes compuestos de hidrazina no atraviesan la barrera
sanguínea del cerebro y por lo tanto inhiben solamente la
descarboxilasa en las partes periféricas del cuerpo. Así,
cuando se emplea L-dopa en combinación con los compuestos
de hidrazina de la presente invención, la descarboxilasa
10 de la L-dopa es inhibida solamente en las partes periféri-
cas del cuerpo 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.

15 La inhibición de la descarboxilasa es también de im-
portancia en el tratamiento de ciertos trastornos del color.
En algunas personas, las células de los intestinos, y qui-
zá de todo el organismo, desarrollan una superactividad en
la producción de serotonina a partir de 5-hidroxitriptófa-
no. El resultado de esta abundancia de serotonina es una
20 inundación constante del colon y evacuación de los intes-
tinos. A no ser que se controle este estado, puede trans-
formarse en una dolencia mucho más grave. Los inhibidores
de descarboxilasa impiden la formación de la serotonina
y por lo tanto controlan la diarrea. Los inhibidores poten-
25 tes de descarboxilasa, como los compuestos hidrazínicos
utilizados en esta invención, especialmente los que no tie-
nen ninguna otra actividad fisiológica, están peculiarmen-
te adaptados a esta aplicación.

30 Los citados compuestos no solamente inhiben la dioxi-
fenilánina descarboxilasa sino también la histidina descar-

413738



1 boxilasa. Por lo tanto, también puede considerarse su uso como antihistamínicos.

5 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 hidroclouros, 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:

20 Determinación de la inhibición de descarboxilasa en mamíferos

25 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 siete. Se utilizan tres grupos distintos para cada tratamiento con la droga y se halla el promedio de los valores obtenidos.

30



413738

14 APR 1965

1 nidos.

5 Los cerebros son homogeneizados con ácido perclórico 0,4 N, 9 ml por gramo de tejido. Las catecolaminas y los catecolaminoácidos son adsorbidos en alúmina y después eluidos. La dopa y la dopamina se separan por cromatografía utilizando una columna que contiene la resina cambiadora de ión "Amberlite CG-50" con un tamaño de 200-400 mallas. Después 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.

15

TABLA I

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

25 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.

30 Comparación entre el racemato y los isómeros D y L del ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico en cuanto a su capacidad para potenciar la inversión por L-dopa de la supresión inducida por la reserpina de la locomoción y la ptosis.



413738

1 Los ratones se alojan en ratoneras de plástico trans-
parente y se aclimatan a su ambiente durante la noche. Una
hora después de la administración intraperitoneal de reser-
pina (4 mg/kg) se administran por vía oral varias dosis del
5 racemato, el isómero L o el isómero D del ácido α -hidrazi-
no- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico en methocel
(agente suspensor - metilcelulosa al 1 % en agua). Se admi-
nistran 150 mg/kg de L-dopa por vía intraperitoneal 2 horas
después de la reserpina y se examina en los ratones, a cie-
10 gas, la supresión de la locomoción y la presencia de ptosis
1 hora más tarde. La supresión de la locomoción se determi-
na colocando 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
15 de la rejilla o se sale de ella (lo que normalmente ocurre
en menos del 15 % de los ratones reserpinizados), se consi-
dera suprimida la locomoción. Los ratones no reserpinizados
invariablemente caminan por la rejilla o se salen de ella
dentro de este periodo de tiempo. La ptosis se califica po-
20 sitiva si se produce un cierre del 50 % o más de los párp-
dos.

25

30

413738



TABLA II

1 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

5

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

10 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.

15 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.

20

25

30



413738

1

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

5

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)

10

15

20

25

30

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 D y L del ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)pro-

413738



1 piónico. Esta dosis de L-dopa (150 mg/kg i.p.) es ineficaz
como antagonista de la reserpina en ratones previamente
tratados con methocel. Las dosis del racemato y de los isó-
5 meros D y L de ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico necesarias para antagonizar las acciones
supresora de la locomoción y de ptosis de la reserpina en
el 50 % de los ratones (DE₅₀), cuando se administran en com-
binación con L-dopa (150 mg/kg), son calculadas a partir
de las líneas de regresión ajustadas hasta la fecha.

10 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 (DE₅₀ > 125,0 mg/kg). La compa-
15 ración de los valores DE₅₀ para el racemato y el isómero L
del ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propió-
nico indica que el isómero L (DE₅₀ 1,2 mg/kg) es aproxima-
damente 2,4 veces más activo que el racemato (DE₅₀ 2,9
mg/kg) en la potenciación de la inversión por L-dopa de la
supresión inducida por la reserpina de la locomoción. Con
20 respecto al antagonismo de la ptosis inducida por la reser-
pina, se ha encontrado que el isómero L (DE₅₀ 1,0 mg/kg)
es aproximadamente 2,8 veces más activo que el racemato
(DE₅₀ 2,9 mg/kg).

25 Los compuestos de esta invención pueden ser obtenidos
por fotólisis de un compuesto de α -N-azidocarbonil-alanina.
Esta reacción fotolítica se efectúa preferiblemente en pre-
sencia de agua, a una temperatura entre -50°C y 100°C y
preferiblemente entre -20°C y +20°C.

30 El procedimiento de acuerdo con la invención será ex-

14



413738

1 plicado ahora mediante los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

Acido L- α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico

5 En un matraz se introducen 119,1 g (0,5 moles) de ses-
quihidrato de L- α -metil- β ,4-dihidroxifenilalanina y tolueno
y se calienta hasta el punto de ebullición. Mediante un se-
parador de agua, se separa el agua formando un azeótropo y
el tolueno se devuelve al matraz. Cuando se ha destilado la
10 cantidad teórica de agua, la mezcla se concentra a sequedad
en vacío. El residuo se recoge en 500 ml de metanol y la
mezcla se satura a 0-5°C con cloruro de hidrógeno gaseoso.
La mezcla se deja en reposo a 0°C durante 42 horas y después
se concentra a sequedad dando éter metílico de L- α -metil-
15 3,4-dihidroxifenilalanina.

20 Se pasa fosgeno, a una velocidad de 0,5 moles por ho-
ra, a través de 67,58 g (0,3 moles) del éster de la etapa an-
terior suspendido en 1 litro de tetrahidrofurano, a 55-70°C.
Después se burbujea nitrógeno durante 2 horas a través de la
mezcla a medida que se deja enfriar a la temperatura ambien-
te. La solución se concentra a vacío para obtener el éster
metílico de L- α -clorocarbonil- α -metil- β -(3,4-carbonildioxi-
fenil)alanina.

25 El éster de la etapa anterior se recoge en 500 ml de
dimetoxietano, se añaden 19,5 g (0,3 moles) de azida sódica
pulverizada y, con agitación, se hierve la mezcla durante
3 horas. Se filtra la mezcla, el filtrado se concentra a se-
quedad en vacío y el residuo se cristaliza en acetona-hexano
dando el éster metílico de L- α -N-azido-carbonil- α -metil- β -
30 (3,4-carbonildioxifenil)alanina.

413738

74

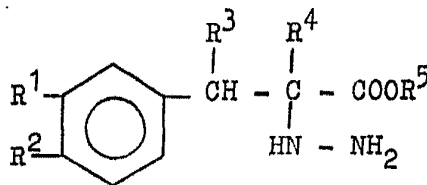


1 Se agitan 32,03 g (0,1 moles) del éster obtenido, du-
 rante 18 horas a 25°C, con 100 ml de ácido clorhídrico 1 N.
 La mezcla se concentra a sequedad en vacío dando L-α-N-azido-
 carbonil-α-metil-β-(3,4-dihidroxifenil)alanina. Al residuo se
 5 añaden 300 ml de agua y la mezcla se calienta a 80°C con agita-
 ción y después se enfría a 0°C. La mezcla se fotoliza a 0°C
 con un arco de mercurio a baja presión. La mezcla se diluye
 hasta 1 litro con agua, se calienta a 90°C, se filtra y el fil-
 trado se enfría a la temperatura ambiente. El filtrado enfria-
 10 do se absorbe en una resina cambiadora de ión del tipo Amberli-
 te IR-120 en el ciclo ácido. Por elución con hidróxido amónico
 1 N y concentración del eluato a sequedad en vacío, se obtiene
 el producto crudo. Después de recristalización se obtiene áci-
 do L-α-hidrazino-α-metil-β-(3,4-dihidroxifenil)propiónico, p.f.
 15 222-224°C.

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

REIVINDICACIONES

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

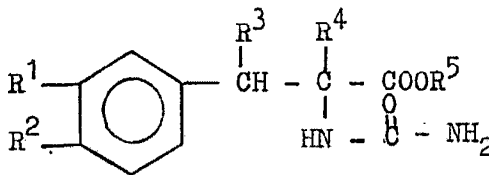


25 donde R¹ y R² representan hidrógeno o grupos hidroxilo o alcoxi
 conteniendo como máximo 6 átomos de carbono, feniloxi o bencil-
 oxo; R³ y R⁴ son hidrógeno o grupos alquilo teniendo como má-
 ximo 6 átomos de carbono y R⁵ es hidrógeno, un átomo metálico
 30 o un grupo alquilo teniendo como máximo 6 átomos de carbono,
 caracterizado por someter a descomposición fotolítica el isó-

413738 14 ABR 1973



mero I de un compuesto de fórmula:



1

5

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

10

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.

Todo conforme, queda descrito y reivindicado en la presente Memoria descriptiva que consta de doce páginas mecanografiadas.

15

Madrid, 14 de Abril de 1.973

BERNARDO UNGRIA

20

25

30