

413739



FC 21-4-75

413739

Int. Cl.: C07C11A01K

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 13.770 del 24-2-70

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

IN: -

413739

- 2 -



14 ABR.

1 Esta invención se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos de ácido L- α -hidrazino- β -fenilpropiónico y a un agente terapéutico conteniendo dicho compuesto 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 α -hidrazino- α -sustituído- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico 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", volumen 6, pág. 101 (1963) y Porter et al "Biochemical Pharmacology", Volumen 11, pág. 1067 (Noviembre 1962). Estos
10 compuestos han encontrado uso como medicamentos.

15 La presente invención se basa en el descubrimiento de que el isómero D del racemato es inactivo y hasta cierto punto incluso antagonista de la acción de la forma L, que es el compuesto activo. Así, en algunos ensayos se observó que la forma L del compuesto es la única forma activa y que
20 la forma 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 descarboxilasa mucho más potente que el compuesto
25 previamente conocido.

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

413739

- 3 -



1 Parkinson. 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
compuestos de hidrazina no atraviesan la barrera sanguínea
5 del cerebro y por lo tanto inhiben solamente la descarboxi-
lasa 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 de la L-dopa es
inhibida solamente en las partes periféricas del cuerpo de-
10 jando una mayor cantidad disponible para el cerebro. El re-
sultado es que se requiere una cantidad mucho menor de
L-dopa para una medicación efectiva.

La inhibición de la descarboxilasa es también de impor-
tancia 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 ninguna 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

413739

- 4 -



1 A 28

1 como antihistamínicos.

Los compuestos, como ya se ha mencionado, están re-
presentados por la fórmula general dada en la Reivindica-
ción 1. Son especialmente adecuados los compuestos que en
5 las posiciones α del ácido propiónico contienen hidrógeno
o un grupo metilo o etilo. Así, el compuesto ácido L- α -hi-
drazino- α -hidrógeno- o alquil- β -(3,4-dihidroxifenil)propió-
nico es activo cuando se administra a mamíferos en una pro-
porción 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 hidrocioruros,
hidrobromuros, sulfatos y sales similares de la función ami-
no. Sin embargo, preferiblemente se utilizan los aminoáci-
dos libres y no las sales.

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

Determinación de la inhibición de descarboxilasa en mamí-
feros

20 Se utilizan ratones albinos hembras con un peso com-
prendido entre 18 y 22 g cada uno. Los animales reciben
80 mg/kg de L-dopa (L-3,4-dihidroxifenilalanina) en combina-
ción con la dosis indicada de ácido L- α -hidrazino- α -metil- β -
(3,4-dihidroxifenil)propiónico, por vía oral, en solución o
25 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 tratamien-
to con la droga y se halla el promedio de los valores obte-
nidos.

30 Los cerebros son homogeneizados con ácido perclórico

413739

- 5 -



1 0,4 N, 9 ml por gramo de tejido. Las catecolaminas y los
catecolaminoácidos son adsorbidos en alúmina y después eluí-
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 va-
lor 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 ácido
 α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico en cuan-
to a su capacidad para potenciar la inversión por L-dopa de
la supresión inducida por la reserpina de la locomoción y la
ptosis

30 Los ratones se alojan en ratoneras de plástico transpa-
rente y se aclimatan a su ambiente durante la noche. Una ho-
ra después de la administración intraperitoneal de reserpina



1 (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 (agente suspensor - metilcelulosa al 1 % en agua). Se administran

5 150 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 colocando a los ratones, individualmente, en el centro de una

10 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 rejilla o se sale de ella (lo que normalmente ocurre en menos del 15 % de los ratones reserpinizados), se considera suprimida la locomoción. Los ratones no reserpinizados invariablemente caminan por la rejilla o se salen de ella dentro

15 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

413739

- 7 -

14



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
10 Methocel	-	1/10	1/10
Isómero D	5,0	1/10	1/10
+ methocel	25,0	2/10	2/10
	125,0	2/10	3/10
Isómero L	0,2	3/10	2/10
+ methocel	1,0	5/10	7/10
	5,0 ^b	8/10	9/10
15 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.

20 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.

25

30

413739

- 8 -



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.)	Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados	Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados
Methocel	-	7/70	8/70
Isómero L + methocel	0,07 0,22 0,67 2,0 6,0	4/30 10/70 20/70 45/70 33/40	5/30 16/70 23/70 44/70 34/40
DE ₅₀ ^b		1,2 mg/kg (0,5-2,9)	1,0 mg/kg (0,5-1,8)
Racemato + methocel	0,67 2,0 6,0 18,0	11/70 29/70 49/70 63/70	10/70 30/70 50/70 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

413739

- 9 -



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 inefi-
caz 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-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 com-
binación 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 aproxi-
madamente 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
20 supresión inducida por la reserpina de la locomoción. Con
respecto al antagonismo de la ptosis inducida por la reser-
pina, se ha encontrado que el isómero L (DE_{50} 1,0 mg/kg es
aproximadamente 2,8 veces más activo que el racemato (DE_{50}
2,9 mg/kg).

25 Según el procedimiento de acuerdo con esta invención,
es posible aminorar un compuesto α -acilamino. Como agente ami-
nante puede utilizarse, por ejemplo, cloramina, metoxiamina,
O-arilhidroxilamina, como O-fenil-hidroxilamina, O-(2,4-di-
nitrofenil)hidroxilamina, ácido hidroxilamino-O-sulfónico
30 y ésteres del mismo. La reacción se efectúa normalmente a una



1 temperatura comprendida entre -70°C y $+150^{\circ}\text{C}$. Los disolven-
tes adecuados son agua, metanol, etanol, acetato de etilo,
éter dietílico, hexano, cloroformo o cloruro de metileno.
La aminación se efectúa preferiblemente haciendo reaccionar
5 con cloramina o metoxiamina a una temperatura comprendida
entre -15°C y $+70^{\circ}\text{C}$.

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

10 EJEMPLO 1

A. L- α -(1-acetilhidrazino)- α -metil- β -(3,4-dimetoxifenil)-
propionitrilo

Se lavan 250 mg de hidruro sódico (al 55 % en aceite
mineral) (5,2 milimoles) con hexano y se suspenden en 6 ml
15 de dimetilsulfóxido. A esta mezcla se añade una solución
de 1,05 g (4 milimoles) de L- α -acetamino- α -metil- β -(3,4-
dimetoxifenil)propionitrilo en 10 ml de DMSO. Cuando cede
el desprendimiento de gas (15 minutos), la solución se en-
fría a 15°C y se añade durante un periodo de 2 minutos una
20 solución de 4,5 milimoles de cloramina en 12 ml de éter
seco. Después de 12 horas de agitación a la temperatura am-
biente, se añaden algunas gotas de ácido acético y la mez-
cla se concentra a vacío. El jarabe resultante se reparte
entre agua y cloroformo. Se seca la capa orgánica, se sepa-
25 ra el disolvente y el residuo se cristaliza en acetato de
etilo y éter.

Después de recristalizar en metanol, el p.f. es $121-$
 123°C .

30 Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$:

413739

- 11 -

14 AB



1 C, 60,63; H, 6,91; N, 15,15

Encontrado: C, 60,82; H, 7,10; N, 15,21

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

5

10

15

Una solución de 150 mg del producto de la etapa anterior en 2,5 ml de ácido clorhídrico concentrado se calienta en un tubo sellado a 120°C durante hora y media. La mezcla resultante se evapora a sequedad en vacío y el producto se lixivia con etanol. El hidrazino-ácido se precipita por adición de dietilamina hasta pH 6,4, se filtra la mezcla y el precipitado se lava con etanol y se seca dando ácido L- α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico. Por recristalización en agua conteniendo una pequeña cantidad de bisulfito sódico se obtiene el producto p.f. 208° (desc.). $[\alpha]_D^{25} = -17,3^\circ$ (c = 2, CH₃OH).

EJEMPLO 2

A. L- α -(1-Benzoilhidrazino)- α -metil- β -(3,4-dibenciloxifenil)propionamida

20

25

30

Se lavan 250 mg de hidruro sódico (al 55 % en aceite mineral, 5,2 milimoles) con hexano y se suspenden en 6 ml de DMSO. A esta mezcla se agrega una solución de 4 milimoles de L- α -benzamido- α -metil- β -(3,4-dibenciloxifenil)propionamida en 10 ml de DMSO. Cuando cede el desprendimiento de gas (15 minutos) la solución se enfría a 15°C y se añade durante 2 minutos una solución de 4,5 milimoles de cloramina en 12 ml de éter seco. Después de 12 horas de agitación a la temperatura ambiente, se agregan algunas gotas de ácido acético y la mezcla se concentra a vacío. El jarabe resultante se reparte entre agua y cloroformo. Se



1973

413739

1 seca la capa orgánica, se separa el disolvente y el residuo se cristaliza en acetato de etilo y éter.

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

5 Una solución del producto de la etapa anterior en 2,5 ml de ácido clorhídrico concentrado se calienta en un tubo sellado a 100°C durante hora y media. Utilizando el procedimiento del Ejemplo 11, se obtiene el producto final.

EJEMPLO 3

10 A. Preparación de L- α -N¹-acetilhidrazino- α -(3,4-dimetoxibencil)propionitrilo

15 Se lavan 250 mg de hidruro sódico (al 55 % en aceite mineral, 5,2 milimoles) con hexano y se suspenden en 6 ml de DMSO. A esta mezcla se añade la solución de 1,05 g (4 milimoles) de L- α -acetamido- α -(3,4-dimetoxibencil)propionitrilo en 10 ml de DMSO. Cuando cede el desprendimiento de gas (15 minutos) la solución se enfría a 15° y se añade durante 2 minutos una solución de 4,5 milimoles de cloramina en 12 ml de éter seco. Después de 12 horas de agitación a la temperatura ambiente, se añaden algunas gotas de ácido acético y la mezcla se concentra a vacío. El jarabe resultante se reparte en agua y cloroformo. Se seca la capa orgánica, se separa el disolvente y el residuo se cristaliza en acetato de etilo y éter; el espectro RMN del residuo indica que se trata de una mezcla 6:4 de producto y material de partida. Por cromatografía en 30 g de gel de sílice H (elución con cloroformo y metanol al 10 %) se obtienen 570 mg (52 %) de L- α -N¹-acetilhidrazino- α -(3,4-dimetoxibencil)propionitrilo y 320 mg de material de partida. Esto

20

25

30



1 representa un rendimiento directo del 56 % o del 80 % calculado sobre el material de partida no recuperado.

Por recristalización en metanol se obtiene una muestra que funde a 121-123°.

5 Análisis calculado para $C_{14}H_{19}N_3O_3$:

C, 60,63; H, 6,91; N, 15,15

Encontrado: C, 60,82; H, 7,10; N, 15,21

10 B. Hidrólisis de L- α -N¹-acetilhidrazino- α -(3,4-dimetoxibencil)propionitrilo a ácido L- α -(3,4-dihidroxibencil)- α -hidrazinopropiónico

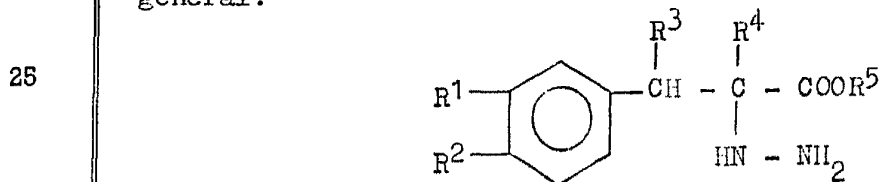
15 Una solución de 150 mg del producto de la etapa anterior en 2,5 ml de ácido clorhídrico concentrado se calienta en un tubo sellado a 120° durante hora y media. Después del procedimiento de trabajo habitual, se obtienen 50 mg del hidrazino-ácido, p.f. 208° (casc.).

$$[\alpha]_D^{25} = -17,3^\circ \quad (c = 2, CH_3OH).$$

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

REIVINDICACIONES

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



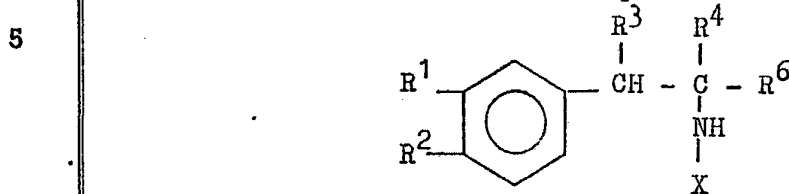
30 donde R¹ y R² representan hidrógeno o grupos hidroxilo o alcoxi conteniendo como máximo 6 átomos de carbono, feniloxi o benciloxi; R³ y R⁴ son hidrógeno o grupos alquilo teniendo

413739

- 14 -



1 como máximo 6 átomos de carbono y R⁵ es hidrógeno, un átomo
metálico o un grupo alquilo teniendo como máximo 6 átomos de
carbono, caracterizado por hacer reaccionar con un agente de
aminación el isómero L de un compuesto de fórmula:



10 donde R¹, R², R³ y R⁴ tienen el significado atribuido ante-
riormente, R⁶ es -CN, -CONH₂, -CON $\begin{array}{l} \text{R}^5 \\ \diagup \\ \text{R}^5 \end{array}$, donde R⁵ es alquilo
o -COOH y X es un grupo alcanóilo.

15 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 pre-
sente Memoria descriptiva que consta de catorce páginas me-
canografiadas.

Madrid, 14 de Abril de 1.973

BERNARDO UNGRIA

P. E.



20

25

30

