

Int. Cl.: C07C//A61K



413742

COMO DIVISIONAL DE LA SOLICITUD DE PATENTE  
Nº. 386.368 DEL 11-12-70.

F.C-21-4-75

**413742**

## MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

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- $\alpha$ -HIDRAZINO

- $\beta$ -FENILPROPIONICO".

Prioridad: Patente canadiense n.º 78.424 del 25-3-70

ES

413742

- 2 -



1                   Esta invención se refiere a un procedimiento para  
la preparación de compuestos de ácido L- $\alpha$ -hidrazino- $\beta$ -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, anteriormen-  
te desconocidos y están representados por la fórmula general  
dada en la Reivindicación 1. Los racematos de los ácidos  $\alpha$ -  
hidrazino- $\alpha$ -sustituído- $\beta$ -(3,4-dihidroxifenil)propiónicos y sus  
10                   ésteres son conocidos en la técnica y se sabe que son poten-  
tes 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 compuestos han  
15                   encontrado uso como medicamentos.

                  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 componente activo. Así, en algunos ensayos se observó que  
20                   la forma L del compuesto es la única forma activa y que la  
forma D es inactiva. En otros ensayos se observó que la for-  
ma 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 cons-  
tituye una parte importante de la acción fisiológica de mu-  
chos tipos de drogas. Por ejemplo, recientemente se ha pro-  
30                   puesto utilizar L-dopa en el tratamiento de la enfermedad de

413742



1 Parkinson. Sin embargo, la L-dopa se utiliza en el cerebro y  
en las aprtes periféricas del organismo y es conveniente que  
solamente sea utilizada en el cerebro. Los presentes compues  
tos de hidrazina no atraviesan la barrera sanguínea del cere  
bro y por lo tanto inhiben solamente la descarboxilasa en  
5 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 inhi-  
bida solamente en las partes periféricas del cuerpo dejando  
10 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 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 inundación  
constante del colon y evacuación de los intestinos. A no ser  
20 que se controle este estado, puede transformarse en una do-  
lencia mucho más grave. Los inhibidores de descarboxilasa  
impiden la formación de la serotonina y por lo tanto contro-  
lan la diarrea. Los inhibidores potentes de descarboxilasa,  
como los compuestos hidrazínicos utilizados en esta inven-  
25 ción, especialmente los que no tienen ninguna otra acti-  
vidad fisiológica, están peculiarmente adaptados a esta  
aplicación.

Los citados compuestos no solamente inhiben la dioxi-  
fenilánina descarboxilasa sino también la histidina descarbo-  
30 xilasa. Por lo tanto, también puede considerarse su uso como antihista-

413742

- 4 -



1 mónicos.

Los compuestos, como ya se ha mencionado, están re-  
presentados por la fórmula general dada en la Reivindicación  
1. Son especialmente adecuados los compuestos que en las po-  
5 siciones  $\alpha$  del ácido propiónico contienen hidrógeno o un gru-  
po metilo o etilo. Así, el compuesto ácido L- $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -  
hidrógeno- o alquil- $\beta$ -(3,4-dihidroxifenil)propiónico es ac-  
tivo cuando se administra a mamíferos en una proporción com-  
prendida entre 0,05 y 100 mg/kg por día.

10 Los compuestos también pueden ser utilizados en for-  
ma de sales farmacéuticamente aceptables, como sales de me-  
tales alcalino o de amonio del grupo carboxi o hidroccloruros,  
hidrobromuros, sulfatos y sales similares de la función ami-  
no. Sin embargo, preferiblemente se utilizan los aminoácidos  
15 libres y no las sales.

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

Determinación de la inhibición de descarboxilasa en mamífe-  
ros

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 combina-  
ción con la dosis indicada de ácido L- $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil-  
 $\beta$ -(3,4-dihidroxifenil)propiónico, por vía oral, en solución  
25 o suspensión en agua. Los animales son decapitados 90 minu-  
tos más tarde. Se extraen los cerebros y se reúnen en grupos  
de 7. 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 perclóri-

413742

- 5 -



1 co 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 ión  
5 "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 (Por-  
ter, 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 tie-  
nen aproximadamente la misma actividad que 20 mg del com-  
puesto DL (racemato) en los animales de ensayo. En otras pa-  
labras, la forma L presenta esencialmente una actividad do-  
ble de la del racemato en este ensayo.

25 Comparación entre el racemato y los isómeros D y L del áci-  
do  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(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

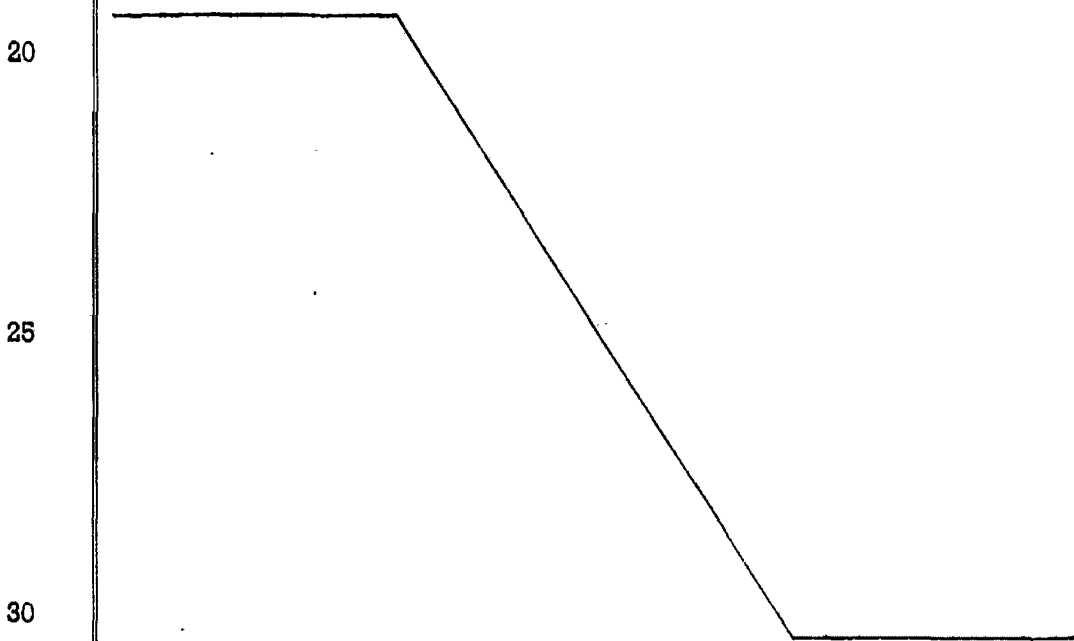
30 Los ratones se alojan en ratoneras de plástico  
transparente y se aclimatan a su ambiente durante la noche.

413742

- 6 -



1 Una hora después de la administración intraperitoneal de  
reserpina (4 mg/kg) se administran por vía oral varias dosis  
del racemato, el isómero L o el isómero D del ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -me-  
5 til- $\beta$ -(3,4-dihidroxifenil)propiónico en methocel (agente sus-  
pensor - 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 su-  
presión de la locomoción y la presencia de ptosis 1 hora más  
tarde. La supresión de la locomoción se determina colocando  
10 a los ratones, individualmente, en el centro de una rejilla  
de alambre de 8 x 10 pulgadas (20 x 25 cm) durante 15 segun-  
dos. 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  
15 locomoción. Los ratones no reserpinizados invariablemente  
caminan por la rejilla o se salen de ella dentro de este pe-  
riodo de tiempo. La ptosis se califica positiva si se produ-  
ce un cierre del 50 % o más de los párpados.



413742

- 7 -

14



TABLA II

1 Comparación del efecto de los isómeros D y L de ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(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 <sup>a</sup>	Dosis (mg/kg p.o.)	Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados	Supresión de la locomoción inducida por la reserpina	Supresión de la ptosis inducida por la reserpina	Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados
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 <sup>b</sup>	8/10			9/10
DE <sub>50</sub> <sup>c</sup>		0,86 mg/kg			0,56 mg/kg

15

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

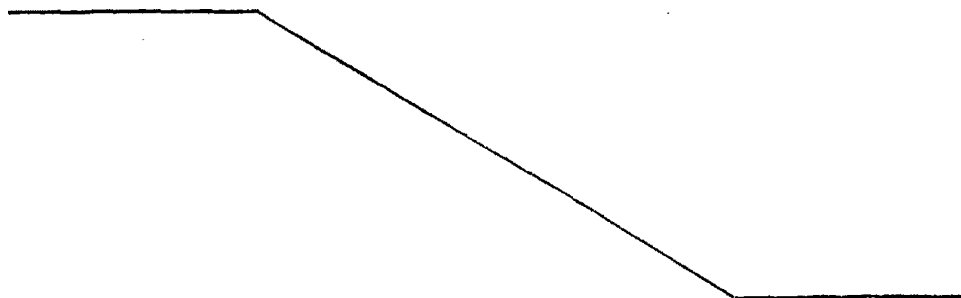
b - Esta dosis de ácido L- $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(3,4-dihidroxifenil)propiónico es inactiva como antagonista de la reserpina cuando se administra antes del methocel.

20

c - Dosis calculada de ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(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



413742



1

TABLA III

Comparación del efecto del racemato y del isómero L de ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(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

<u>Tratamiento previo<sup>a</sup></u>	<u>Dosis (mg/kg p.o.)</u>	<u>Nº de ratones protegidos/Nº de ratones probados</u>	<u>Supresión de la locomoción inducida por la reserpina</u>	<u>Supresión de la ptosis inducida por la reserpina</u>
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 <sub>50</sub> <sup>b</sup>		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 <sub>50</sub> <sup>b</sup>		2,9 mg/kg (2,4-3,5)		2,8 mg/kg (2,2-3,8)

10

15

20

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

b - Dosis calculada de ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(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.

25

30

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

413742

- 9 -



1 y L del ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(3,4-dihidroxifenil)propiónico. 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 isómeros  
5 D y L de ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(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 ( $DE_{50}$ ), cuando se administran en combinación 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  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(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 comparación de los valores  $DE_{50}$  para el racemato y el isómero L  
15 del ácido  $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(3,4-dihidroxifenil)propiónico indica que el isómero L ( $DE_{50}$  1,2 mg/kg) es aproximadamente 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 supresión inducida por la reserpina de la locomoción. Con respecto al antagonismo de la ptosis inducida por la reserpina, se  
20 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 se condensa hidrazina, una acilhidrazina o una sal de metal alcalino de una hidrazina con un derivado de ácido propiónico en cuya posición se encuentra un grupo lábil como bromo, yodo, cloro, acilsulfonilo o alquilsulfonilo.

30 El procedimiento de acuerdo con la invención será explicado ahora mediante los siguientes ejemplos:

413742



1

EJEMPLO 1

5

10

A una solución de 27,5 g (0,1 moles) de ácido L- $\alpha$ -bromo- $\alpha$ -(3,4-dihidroxibencil)propiónico en 200 ml de metanol se añaden 20 g de yoduro potásico y la mezcla se lleva a ebullición durante 2 horas. Se enfría la mezcla, se agregan 5,0 g de hidrazina al 96 % y de nuevo se hierve la mezcla durante 2 horas. Al enfriar, la mezcla se concentra a sequedad en vacío, se recoge el residuo en cloroformo-agua, la solución en cloroformo se lava con agua y solución salina saturada y el extracto en cloroformo se seca sobre sulfato magnésico. La mezcla se concentra a sequedad y el residuo se cristaliza en metanol-agua obteniéndose ácido L- $\alpha$ -(3,4-dihidroxibencil)- $\alpha$ -hidrazinopropiónico, p.f. 208° (desc.).

15

EJEMPLO 2

20

A una solución de 27,5 g (0,1 moles) de ácido D- $\alpha$ -bromo- $\alpha$ -(3,4-dihidroxibencil)propiónico en 200 ml de metanol se añaden 5,0 g de hidrazina al 96 %. La mezcla se refluxa durante 2 horas. Al enfriar, la mezcla se concentra a sequedad en vacío, el residuo se recoge en cloroformo-agua, se lava la solución en cloroformo con agua y solución salina saturada y el extracto en cloroformo se seca sobre sulfato magnésico. La mezcla se concentra a sequedad obteniéndose ácido L- $\alpha$ -(3,4-dihidroxibencil)- $\alpha$ -hidrazinopropiónico, p.f. 208° (desc.).

25

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

REIVINDICACIONES

30

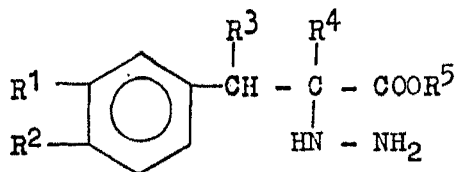
1. Un procedimiento para la preparación de compuestos de ácido L- $\alpha$ -hidrazino- $\beta$ -fenilpropiónico de fórmula general

*mg*

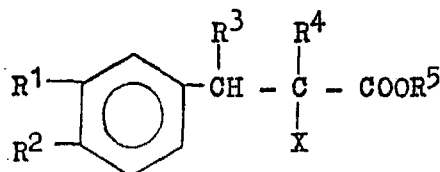
413742

- 11 -

14 AB



donde  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  representan hidrógeno o grupos hidroxilo o alcoxi conteniendo como máximo 6 átomos de carbono, feniloxi o benciloxi;  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  son hidrógeno o grupos alquilo teniendo como máximo 6 átomos de carbono y  $\text{R}^5$  es hidrógeno, un átomo metálico o un grupo alquilo teniendo como máximo 6 átomos de carbono, caracterizado por hacer reaccionar con hidrazina o una sal de metal alcalino de hidrazina un compuesto de fórmula:



donde  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  y  $\text{R}^5$  tienen el significado dado anteriormente y X es un átomo de halógeno, arilsulfonilo o alquilsulfonilo.

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- $\alpha$ -HIDRAZINO- $\beta$ -FENILPROPIONICO".

25

30

413742



14 ABR 1973

1

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

5

Madrid, 14 de abril de 1973.

BERNARDO UNGRIA

P.P.

10

15

20

25

30

*ME*