

+13744



Int. Cl.: C07C/A61K

COMO DIVISIONAL DE LA SOLICITUD DE PATENTE n° 386.368 del
11.12.70

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un^a

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 -HIDRAZINO- β -

FENILPROPIONICO".

Prioridad: Patente canadiense n.º 78.418 del 25-3-70 y
" " n.º 78.421 " 25-3-70

RJ.

413744 14



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)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", volumen 6, pág. 101 (1963) y Porter et al "Biochemical Pharmacology", volumen 11, pág. 1067 (Noviembre 1962). Estos 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 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 previamente conocido.

20 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

25

30

413744



1 de Parkinson. Sin embargo, la L-dopa se utiliza en el cere-
bro y en las partes periféricas del organismo y es convenien-
te 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-
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
importancia en el tratamiento de ciertos trastornos del co-
15 lon. 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-hidroxitriptó-
fano. El resultado de esta abundancia de serotonina es una
inundación constante del colon y evacuación de los intesti-
20 nos. A no ser que se controle este estado, puede transformar-
se en una dolencia mucho más grave. Los inhibidores de des-
carboxilasa impiden la formación de la serotonina y por lo
tanto controlan la diarrea. Los inhibidores potentes de des-
carboxilasa, como los compuestos hidrazínicos utilizados en
25 esta 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-
30 boxilasa. Por lo tanto, también puede considerarse su uso

413744₁₄



1 como antihistamínicos.

Los compuestos, como ya se ha mencionado, están re-
presentados por la fórmula general dada en la Reivindicación

5 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 for-
ma de sales farmacéuticamente aceptables, como sales de me-
tales alcalinos o de amonio del grupo carboxi o hidrocloru-
ros, hidrobromuros, sulfatos y sales similares de la función
amino. Sin embargo, preferiblemente se utilizan los amino-
15 ácidos 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 mamí-
20 feros

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-
25 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 perclóri-

413744 14



1 co 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
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-dopa
de la supresión inducida por la reserpina de la locomoción
y la ptosis

30 Los ratones se alojan en ratoneras de plástico trans-

413744

14



1

5

10

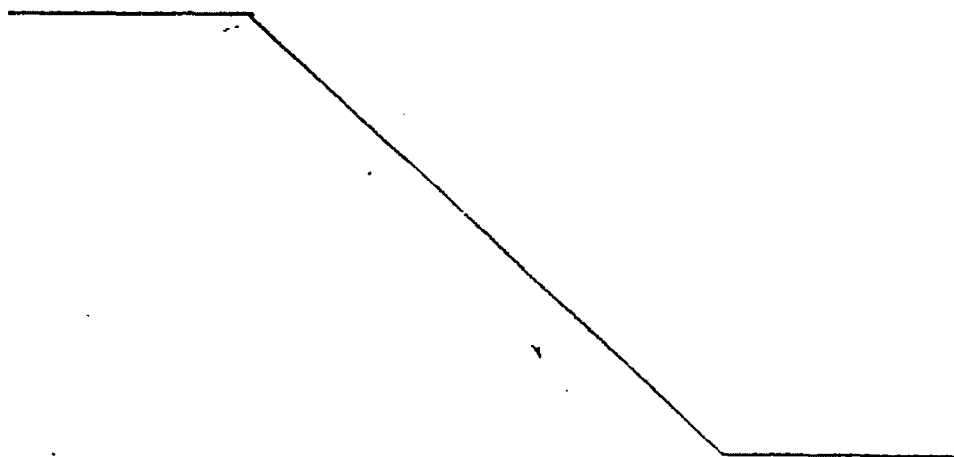
15

20

25

30

parente y se aclimatan a su ambiente durante la noche. 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 α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico en methocel (agente 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 colocando a los ratones, individualmente, en el centro de una rejilla de alambre de 8 x 10 pulgadas (20 x 25 cm) durante 15 minutos. 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 de este periodo de tiempo. La ptosis se califica positiva si se produce un cierre del 50 % o más de los párpados.



413744

14



TABLA II

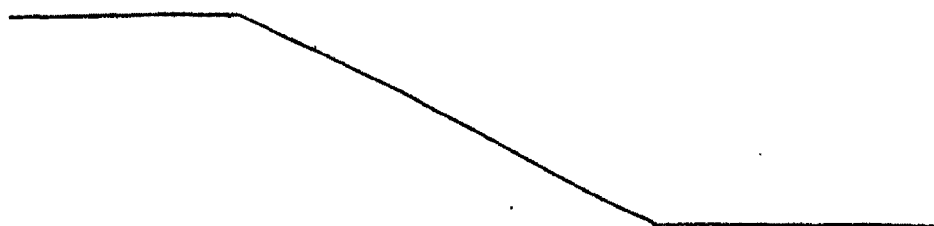
Comparación del efecto de los isómeros D y L de ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico sobre el antagonismo de la L-dopa contra la supresión inducida por la reserpina de la locomoción y la ptosis

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	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
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 administran 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.



493744

14 APR 1973



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 (2,2-3,9)

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

413744



1973

1 isómeros D y L del ácido α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidro-
xifenil)propiónico. Esta dosis de L-dopa (150 mg/kg i.p.)
es ineficaz como antagonista de la reserpina en ratones pre-
viamente tratados con methocel. Las dosis del racemato y de
5 los 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 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 compara-
15 ción 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 aproxima-
damente 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 su-
20 presión inducida por la reserpina de la locomoción. Con res-
pecto 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 inven-
ción, el ácido α -hidrazino- β -hidroxifenilpropiónico puede
ser obtenido por hidrólisis del correspondiente derivado
alcoxicarbonílico, amido o ciano. Esta hidrólisis puede
efectuarse enzimáticamente o mediante un ácido o una base.
30 La hidrólisis enzimática puede realizarse empleando un mi-

413744 14 AB



1 croorganismo, como Aspergillus oryzae, Zygosaccharomyces
acidifiens, Streptomyces spheroides o Alcaligenes sp. El
microorganismo se utiliza en forma de suspensiones celula-
res a un pH comprendido entre 5,0 y 9,0, ajustado con un
5 regulador de fosfato. También puede efectuarse la reacción
con enzimas recuperadas de las células.

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

EJEMPLO 1

10 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 de dimetilsulfóxido. A esta mezcla se añade una so-
lución de 1,05 g (4 milimoles) de L- α -acetamino- α -metil- β -
15 (3,4-dimetoxifenil)propionitrilo en 10 ml de DMSO. Cuando
cede el desprendimiento de gas (15 minutos), la solución
se enfría a 15°C y se añade durante un periodo de 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
20 ambiente, se añaden algunas gotas de ácido acético y la
mezcla se concentra a vacío. El jarabe resultante se reparte
entre agua y cloroformo. Se seca la capa orgánica, se sepa-
ra el disolvente y el residuo se cristaliza en acetato de
25 etilo y éter.

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

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

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

30

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

413744¹⁴ AB



1 B. Acido L- α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)pro-
5 piónico

Una solución de 150 mg del producto de la etapa anterior en 2,5 ml de ácido clorhídrico concentrado se ca-
5 lienta en un tubo sellado a 120°C durante hora y media. La mezcla resultante se evapora a sequedad en vacío y el pro-
ducto se lixivia con etanol. El hidrazino-ácido se preci-
pita por adición de dietilamina hasta pH 6,4, se filtra
la mezcla y el precipitado se lava con etanol y se seca dan-
do ácido L- α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)pro-
10 piónico. Por recristalización en agua conteniendo una peque-
ña cantidad de bisulfito sódico se obtiene el producto,
p.f. 208° (desc.).

15 $[\alpha]_D^{25} = -17,3^\circ$ (c = 2, CH₃OH).

EJEMPLO 2

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

20 Se lavan 250 mg de hidruro sódico (al 55 % en acei-
te mineral, 5,2 milimoles) con hexano y se suspenden en
6 ml de DMSO. A esta mezcla se agrega una solución de 4 mi-
limoles de L- α -benzamido- α -metil- β -(3,4-dibenciloxifenil)-
propionamida en 10 ml de DMSO. Cuando cede el desprendimien-
to de gas (15 minutos) la solución se enfría a 15°C y se
25 añade durante 2 minutos una solución de 4,5 milimoles de
cloramina en 12 ml de éter seco. Después de 12 horas de agi-
tación 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 seca la
30 capa orgánica, se separa el disolvente y el residuo se cris-

413744 14 AB



1 taliza 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 1, 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 entre 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 25 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 30 de material de partida. Esto representa un rendimiento di-

- 413744



14 A

1 recto 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

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 hidrazinoácido, p.f. 208° (desc.).

$$[\alpha]_D^{25} = -17,3^\circ \quad (c = 2, \text{CH}_3\text{OH}).$$

EJEMPLO 4

20 A. Preparación de L- α -(1-mentoxiacetilhidrazo)- α -(4-hidroxixi-3-metoxibencil)propionitrilo

A una mezcla de 92,3 g (0,435 moles) de DL- α -hidrazino- α -vainillilpropionitrilo en 2 litros de dioxano y 0,5 litros de tetrahidrofurano se añaden simultáneamente 100 g (0,430 moles) de cloruro de 1-mentoxiacetilo y 58 ml (0,415 moles) de trietilamina. La mezcla se agita a la temperatura ambiente durante 18 horas. Las sales precipitadas y los disolventes se separan dejando una mezcla oleosa. El residuo se cristaliza en acetato de etilo y hexano dando 66 g de producto que en su mayor parte es el diastereoisómero Ll.

30

-14 413744



1 El material cristalino se recrystaliza tres veces en acetato de etilo-hexano dando 12 g de L- α -(1-mentoxiacetilhidrazo)- α -(4-hidroxi-3-metoxibencil)propionitrilo, p.f. 126-126,5°.

5 Análisis calculado para $C_{23}H_{35}N_3O_4$:

C, 66,16; H, 8,45; N, 10,06

Encontrado: C, 66,21; H, 8,68; N, 10,23

10 B. Hidrólisis de L- α -(1-mentoxiacetilhidrazo)- α -(4-hidroxi-3-metoxibencil)propionitrilo a ácido L- α -(3,4-dihidroxibencil)- α -hidrazinopropiónico

Se saturan 25 ml de metanol y 30 ml de ácido clorhídrico concentrado, entre 0° y -10°, con cloruro de hidrógeno gaseoso. A la mezcla a 0° se añaden, con agitación 3,0 g (0,0072 moles) del L- α -(1-mentoxiacetilhidrazo)- α -(4-hidroxi-3-metoxibencil)propionitrilo y la mezcla agitada se deja calentar a la temperatura ambiente durante 18 horas. La solución se evapora a sequedad y el residuo se disuelve en una mezcla de 45 ml de ácido clorhídrico concentrado y 5 ml de ácido acético. Esta solución se calienta en un tubo sellado a 120° durante 90 minutos. Se obtiene una solución transparente que se evapora a sequedad. Del residuo se lixivia el producto con 25 ml de etanol. El hidrazinoácido, después de la adición de 5 ml de benceno, se precipita con dietilamina hasta pH 6,5. El producto crudo, 1,1 g (56 %), se trata con carbón activo decolorante, se filtra y se cristaliza en 50 ml de agua hirviendo conteniendo 5 mg de Versene (R). Se obtiene ácido L- α -(3,4-dihidroxibencil)- α -hidrazino-propiónico, p.f. 208° (desc.).

25
30 $[\alpha]_D^{25} = -17,3^\circ$ (c = 2, CH₃OH).



1

EJEMPLO 5

Hidrólisis de L- α -(3,4-dibenciloxibencil)- α -hidrazino-propio-
nato de metilo a ácido L- α -(3,4-dibenciloxibencil)- α -hidrazi-
nopropiónico

5

Se disuelven 9,6 g (0,04 moles) del L- α -(3,4-dibenciloxibencil)- α -hidrazinopropionato de metilo en ácido clorhídrico normal y se lleva a ebullición durante 3 horas. La mezcla se concentra a sequedad en vacío dando la sal hidrocloreuro de ácido L- α -(3,4-dibenciloxibencil)- α -hidrazinopropiónico. El compuesto se libera a partir de su sal empleando una resina cambiadora de ión.

10

EJEMPLO 6

A. Preparación de Ll-N²-mentoxiacetilhidrazino- α -4-hidroxi-
3-metoxibencilpropionitrilo

15

Se lleva a ebullición durante 4 horas una mezcla de 228,3 g (1,0 moles) de 1-mentiloxiacetato de metilo en 300 ml de metanol y 120 ml de hidrato de hidrazina al 85 %. La mezcla se concentra a sequedad en vacío y el residuo se recrystaliza en metanol-agua dando mentiloxiacetilhidrazina.

20

A 90,1 g (0,5 moles) de 4-hidroxi-3-metoxifenil-acetona en 1 litro de metanol-agua 1:1 se añaden 171,3 g (0,75 moles) de 1-mentiloxiacetilhidrazina y 32 g (0,54 moles) de cianuro sódico. La mezcla se agita fuertemente a la temperatura ambiente durante 18 horas. Se concentra a vacío la mezcla hasta aproximadamente la mitad de su volumen y se mantiene y cristaliza a 0-5° durante 48 horas. El producto se separa por filtración, se seca y se recrystaliza en acetato de etilo. Se disuelve a 80° y se recupera a -20°. El producto es Ll-N²-mentoxiacetilhidrazino- α -4-hidroxi-3-metoxibencilpropionitrilo, p.f. 126-126,5°.

30



1 B. Hidrólisis de L1-N²-mentoxiacetilhidrazino- α -hidroxi-3-
5 metoxibencilpropionitrilo

El producto se hidroliza con HCl concentrado para obtener ácido L- α -(3,4-dihidroxi-bencil)- α -hidrazino-propiónico.

EJEMPLO 7

A. Preparación de L- α -N¹-acetil-N²-ftaloilhidrazino-4-meto-
10 xi-3-hidroxibenzoil-propionato de metilo

Se calientan en un baño de agua a 90-95°, durante 3 horas 97,6 g (0,5 moles) de L- α -metiltirosina, 153,1 g (1,5 moles) de anhídrido acético y 200 ml de piridina. La mezcla se enfría a la temperatura ambiente, se vierte sobre 500 g de hielo y se extrae con éter. El extracto etéreo se lava con agua, ácido diluido y solución salina saturada. Después de concentración de la mezcla a vacío, el residuo se recristaliza en acetona-hexano.

Se refluyen 111,7 g (0,4 moles) de L-O,N-diacetil- α -metiltirosina con 1 litro de ácido clorhídrico 1 N durante 2 horas. La mezcla se concentra a sequedad en vacío. El residuo se recoge en cloroformo y agua. Se seca a vacío. El residuo de L-N-acetil- α -metiltirosina es recristalizado en metanol-agua.

Se nitrosan 71,19 g (0,3 moles) de L-N-acetil- α -metiltirosina.

Se enfría a 10° una mezcla de 65,5 g (1,0 moles) de cinc en polvo y 100 ml de agua. Mientras se agita, se añaden 0,24 moles de compuesto nitroso en 150 ml de ácido acético glacial, mientras se mantiene la temperatura a 10-15°. Una vez terminada la adición, la mezcla se deja calentar a la temperatura ambiente durante 1 hora y después

413744



1 se calienta a 80° en baño de vapor. La mezcla se filtra pa-
ra separar el cinc que no ha reaccionado y el precipitado
se lava con tres porciones de 25 ml de ácido clorhídrico
2 N templado. Los filtrados combinados se enfrían a la tem-
5 peratura ambiente y se alcalinizan hasta pH 6,5 con re-
frigeración. Se filtra la mezcla y se seca el precipitado.
El residuo se extrae con tres porciones de 200 ml de cloro-
formo. El extracto seco (MgSO₄) se concentra a vacío hasta
formar un residuo que se recristaliza en metanol dando áci-
10 do L-α-N¹-acetilhidrazino-α-4-hidroxi-bencilpropiónico.

A 50,45 g (0,2 moles) del compuesto N-acético
de la etapa anterior en 200 ml de metanol-agua 1:1 a re-
flujo y bajo nitrógeno se añaden 25,47 g (0,2 moles) de
benzaldehído en 50 ml de metanol. La mezcla se hierve duran-
15 te 2 horas, se concentra a sequedad en vacío y el residuo
se cristaliza en acetona-hexano dando ácido L-α-N¹-acetil-
N²-bencilidenhidrazino-α-4-hidroxi-bencilpropiónico.

A 50,05 g (0,15 moles) de la hidrazona anterior
en 150 ml de etanol y 50 ml de trietilamina se añaden
20 33,3 g (0,17 moles) de tetranitrometano en 50 ml de metanol.
La mezcla se continúa agitando durante 18 horas a la tempe-
ratura ambiente. Después de concentrar a sequedad en vacío,
la mezcla se recoge en cloroformo y se extrae con ácido
acético diluído. El extracto seco (Na₂SO₄) se concentra a
25 sequedad en vacío y se recristaliza en metanol dando ácido
L-α-N¹-acetil-N²-benciliden-hidrazino-α-4-hidroxi-3-nitro-
bencilpropiónico.

A 38,44 g (0,1 moles) del compuesto anterior en
100 ml de dimetoxietano se añaden gota a gota, con agita-
30 ción, 0,22 moles de diazometano etéreo a 0-5°. La mezcla

4138744

14



1 se deja calentar a la temperatura ambiente y se mantiene
en reposo durante 18 horas. Se concentra la mezcla a se-
quedad y el residuo se cristaliza en acetona-hexano dando
L- α -N¹-acetil-N²-bencilidenhidrazino-4-metoxi-3-nitroben-
5 cilpropionato de metilo.

Se hidrogenan 20,62 g (0,05 moles) del éster de la
etapa anterior en 200 ml de metanol, sobre platino (ini-
cialmente como 0,100 g de óxido) a la temperatura ambiente
y 3 atmósferas hasta que la absorción es de 5 moles de hi-
10 drógeno por mol de material de partida. El catalizador se
separa por filtración, se concentra el filtrado y el resi-
duo se recristaliza en metanol-agua dando L- α -N¹-acetil-
hidrazino- α -3-amino-4-metoxibencilpropionato de metilo.

A una mezcla de 28,3 g (0,1 moles) del éster an-
15 terior en 300 ml de dimetoxietano se añaden, a la tempera-
tura ambiente, 14,81 g (0,1 moles) de anhídrido ftálico
en 100 ml de dimetoxietano. Después de agregar 1 g de
ácido 2,4-dinitrobenzosulfónico, la mezcla se calienta a
reflujo durante 5 horas. Se enfría la mezcla, se concentra
20 a sequedad en vacío. El residuo se recogió en cloroformo y
agua enfriados con hielo y la capa acuosa se alcaliniza
con bicarbonato sódico. La capa de cloroformo se lava con
agua, se seca sobre sulfato magnésico y se concentra. El
residuo se cristaliza en metanol-agua dando L- α -N¹-acetil-
25 N²-ftaloilhidrazino-4-metoxi-3-aminobencil-propionato de
metilo.

A 20,57 g (0,05 moles) del éster de la etapa an-
terior en 22 ml de ácido sulfúrico al 50 %, a 0-5°, se
añaden 3,8 (0,055 moles) de nitrito sódico en 15 ml de
30 agua. La mezcla agitada se envejece en un baño de hielo

413744 14 ABR 1954



1 durante 1 hora, se deja calentar a la temperatura ambiente
y después se calienta en un baño de vapor hasta que termi-
na el desprendimiento de nitrógeno. Se enfría la mezcla,
se extrae con acetato de etilo, se seca el extracto sobre
5 sulfato sódico y se concentra a sequedad en vacío. El re-
siduo es L- α -N¹-acetil-N²-ftaloilhidrazino-4-metoxi-3-
hidroxibencilpropionato de metilo.

10 B. Hidrólisis de L- α -N¹-acetil-N²-ftaloilhidrazino-4-meto-
xi-3-hidroxibenzoylpropionato de metilo a ácido L- α -
(3,4-dihidroxibencil)- α -hidrazinopropiónico

15 Se calienta en un tubo sellado a 120°, durante
2 horas, una mezcla de 32,3 milimoles de L- α -N¹-acetil-N²-ftaloilhidra-
zino-4-metoxi-3-hidroxibenzoylpropionato de metilo y 150 ml
de ácido clorhídrico concentrado. La mezcla resultante se
evapora a sequedad en vacío y el producto se lixivia con
20 etanol. El hidrazinoácido se precipita por adición de
diethylamina hasta pH 6,4, se filtra la mezcla y el precipi-
tado se lava con etanol y se seca dando 6,5 g de ácido
L- α -(3,4-dihidroxibencil)- α -hidrazinopropiónico (73 %).
Por recristalización en agua conteniendo una pequeña can-
tidad de bisulfito sódico, se obtiene el producto, p.f.
208° (desc.).

$$[\alpha]_D = -17,3^\circ (c = 2, CH_3OH)$$

25 Análisis calculado para C₁₀H₁₄N₂O₄·H₂O:

C, 49,17; H, 6,60; N, 11,47

Encontrado: C, 49,13; H, 6,74; N, 11,19.

EJEMPLO 8

30 A 50,06 g (0,15 moles) de ácido L- α -N¹-acetil-
N²-bencilidenhidrazino- α -metil- β -4-hidroxifenilpropiónico
en 150 ml de metanol y 50 ml de trietilamina se añaden



1 33,3 g (0,17 moles) de tetranitrometano en 50 ml de metanol. La mezcla se agita durante 18 horas a la temperatura ambiente. Después de concentrar a sequedad en vacío, la
5 mezcla se recoge en cloroformo y se extrae con ácido acético diluido. El extracto seco (Na_2SO_4) se concentra a sequedad en vacío y se recristaliza en metanol dando ácido L- α -N¹-acetil-N²-benciliden-hidrazino- α -metil- β -(4-hidroxi-3-nitrofenil)propiónico.

10 A 38,44 g (0,1 moles) del compuesto anterior en 100 ml de dimetoxietano se añaden gota a gota, con agitación, 0,22 moles de diazometano etéreo, a 0-5°. La mezcla se deja calentar hasta la temperatura ambiente y en reposo durante 18 horas. Se concentra la mezcla a sequedad y el residuo se cristaliza en acetona-hexano dando ácido L- α -N¹-
15 acetil-N²-bencilidenhidrazino- α -metil- β -(4-metoxi-3-nitrofenil)propiónico.

Se hidrogenan 20,62 g (0,05 moles) del éster de la etapa anterior en 200 ml de metanol sobre platino (inicialmente con 0,100 g de óxido) a la temperatura ambiente
20 y 3 atmósferas, hasta que se han absorbido 5 moles de hidrógeno por mol de material de partida. El catalizador se separa por filtración, se concentra el filtrado y el residuo se recristaliza en metanol-agua.

25 A una mezcla de 28,13 g (0,1 moles) del L- α -N¹-acetilhidrazino- α -metil- β -(3-amino-4-metoxifenil)propionato de metilo obtenido en 300 ml de dimetoxietano se añaden a la temperatura ambiente 14,81 g (0,1 moles) de anhídrido ftálico en 100 ml de dimetoxietano. Después de añadir 1 g de ácido 2,4-dinitrobenzosulfónico, la mezcla se
30 calienta a la temperatura de ebullición durante 5 horas.

413744

14



1 Se enfría la mezcla y se concentra a sequedad en vacío. El
residuo se recoge en cloroformo y agua enfriados con hielo
y la capa acuosa se alcaliniza con bicarbonato sódico. La
capa de cloroformo se lava con agua, se seca sobre sulfato
5 magnésico y se concentra. El residuo se cristaliza en metanol-agua dando L- α -N¹-acetil-N²-ftaloil-hidrazino- α -metil-
 β -(4-metoxi-3-aminofenil)propionato de metilo.

A 20,57 g (0,05 moles) del éster de la etapa anterior en 22 ml de ácido sulfúrico al 50 % a 0-5°C se añaden
10 3,8 g (0,55 moles) de nitrito sódico en 15 ml de agua. La mezcla agitada se envejece en un baño de hielo durante 1 hora, se deja calentar a la temperatura ambiente y después se calienta en un baño de vapor hasta que cesa el desprendimiento de nitrógeno. Se enfría la mezcla, se extrae con
15 acetato de etilo, se seca el extracto sobre sulfato sódico y se concentra a sequedad en vacío. El residuo se hidroliza en la forma antes descrita para dar ácido L- α -hidrazino- α -metil- β -(3,4-dihidroxifenil)propiónico, p.f. 208° (desc.)

EJEMPLO 9

20 Una solución de 9,6 g (0,04 moles) de L- α -(3,4-dihidroxibencil)- α -hidrazinopropionato de metilo en 1 litro de cloruro potásico 0,1 M se lleva a pH 8,0 por adición de hidróxido potásico empleando una microbureta. Se añaden aproximadamente 100 unidades de esterasa de hígado
25 de cerdo y se deja actuar a 37°. Se añade hidróxido potásico a medida que es necesario para mantener el pH en 8,0. Después de 4 horas, el pH se ajusta a 6,4 con ácido clorhídrico y la mezcla se concentra a sequedad en vacío. El residuo se extrae con metanol y por recristalización en agua
30 se obtiene ácido L- α -hidrazinopropiónico, p.f. 208° (desc.)



1

EJEMPLO 10

Se repite el procedimiento del Ejemplo 9 con la modificación de que en lugar de esterasa de hígado de cerdo se emplean enzimas derivados de uno de los microorganismos Aspergillus oryzae, Zygosaccharomyces acidifiens, Streptomyces spheroides y Alcaligenes sp. El ácido obtenido se purifica por cromatografía en una resina cambiadora de ión del tipo Amberlite-IR-120 [®] en el ciclo ácido.

5

EJEMPLO 11

10

El enzima nitrilasa utilizado se extrae del perejil con regulador de fosfato 0,1 M, pH 7,5 y se extraen 50 g del material por 100 ml de regulador.

15

A este substrato de enzima se agrega L- α -(3,4-dihidroxibencil)- α -hidrazinoacetoniitrilo disuelto en una cantidad de metanol tal que la concentración final es del 2 %. La hidrólisis se realiza a 25-37°C durante 1-6 horas. El pH se mantiene a 7,0-8,0 mediante la adición de álcali diluido. Transcurrido este tiempo, la mezcla se acidula a pH 1-2 con HCl diluido y se extrae con cloroformo. Los extractos acuosos se lavan con cloroformo y se concentran a sequedad en vacío, después de lo cual el residuo se recristaliza en agua para dar hidrocloreuro de ácido L- β -(3,4-dihidroxifenil)- α -hidrazinopropiónico, p.f. 208° (desc.).

20

25

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

REIVINDICACIONES

30

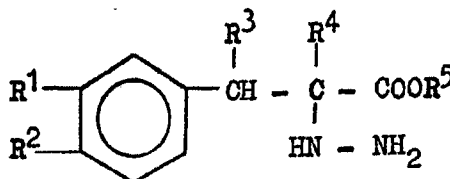
1. Un procedimiento para la preparación de compuestos de ácido L- α -hidrazino- β -fenilpropiónico de fórmula general:

or
e

- 4313744



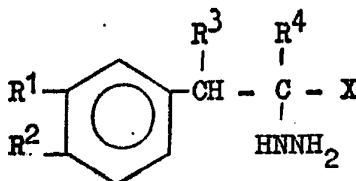
14



5

donde R^1 y R^2 representan hidrógeno o grupos hidroxilo o alcoxi conteniendo como máximo 6 átomos de carbono, feniloxi o bencilóxi; R^3 y R^4 son hidrógeno o grupos alquilo teniendo como máximo 6 átomos de carbono y R^5 es hidrógeno, un átomo metálico o un grupo alquilo teniendo como máximo 6 átomos de carbono, caracterizado por hidrolizar un isómero L de un compuesto de fórmula general:

10



15

donde R^1 , R^2 , R^3 y R^4 tienen el significado dado anteriormente y X es alcóxicarbonilo, amido o ciano, para formar el ácido carboxílico libre.

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".

20

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

Madrid, 14 de Abril de 1.973

BERNARDO UNGRIA

P.P.

30