



ESPAÑA

10	ES	11	NUMERO	445927	10	AI
		21				
		22	FECHA DE PRESENTACION			

PATENTE DE INVENCION

30	PRIORIDADES:	32	FECHA	33	PAIS
	31	NUMERO			
		25 10 634.7	12 Marzo 1.975		Alemania

47	FECHA DE PUBLICIDAD	51	CLASIFICACION INTERNACIONAL	62	PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
			Cote, AB1K		

54	TITULO DE LA INVENCION
"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PEPTIDOS DE L-3-(3,4-DIHIIDROXI-FENIL)-2-METIL-ALANINA"	
CONCEDIDA	

71	SOLICITANTE (S)	22 MAR 1977
BOEHRINGER MANNHEIM, GMBH		

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
Mannheim-Waldhof

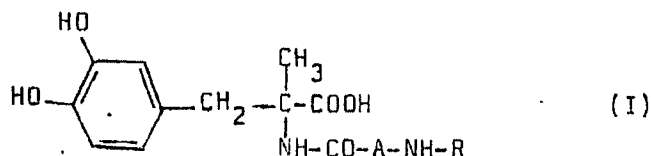
72	INVENTOR (ES)
Dr.rer.nat.Franz Braun, Dr.Ing.Kurt Stach, Dr.rer.nat. Max Thiel, Dr.med.vet.Gisbert Sponer y Dr.med.Karl Dietmann	

73	TITULAR (ES)
La misma solicitante	

74	REPRESENTANTE
D. Carlos Fernandez Candelas	



Objeto del presente invento es un procedimiento para la preparación de derivados de la L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina de la fórmula general I



5 en la que A significa una cadena alcoholeno saturada, de cadena recta o ramificada, que puede estar sustituida con un grupo hidroxilo o con un radical fenilo que lleva eventualmente grupos hidroxilo; y

10 R significa un átomo de hidrógeno, un grupo alcohol inferior, o un radical glicilo o alanilo, sales farmacológicamente compatibles de los mismos, para preparados farmacéuticos con un contenido de compuestos de la fórmula general I.

15 Todos los átomos de carbono de los radicales A y R con un centro de asimetría pueden tener configuración L o D, prefiriéndose la configuración L. El presente invento concierne tanto a las mezclas racémicas como también a los enantiómeros L o D puros.

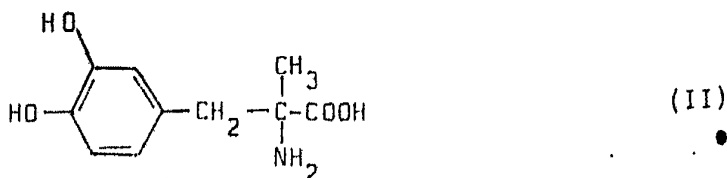
Los grupos alcoholeno A pueden contener 1 a 5 átomos de carbono, los grupos alcohol inferiores R pueden contener 1 a 3 átomos de carbono, prefiriéndose el grupo metilo.

20 Los nuevos compuestos y sus sales farmacológicamente compatibles tienen propiedades hipotensoras.

La preparación de los nuevos compuestos obtenidos por el procedimiento de acuerdo con el invento está caracterizada -



porque se condensa L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina de la fórmula II



cuyos grupos hidroxilo y/o cuyo radical carboxilo pueden ser protegidos eventualmente de modo intermedio,

5 con ácidos carboxílicos de la fórmula general III



o con derivados reactivos de éstos, en la que

A tiene los significados antes indicados y Z significa un radical reactivo o el grupo -NHR, en que R tiene los significados antes mencionados,

10 pudiendo ser protegidos de modo intermedio en caso deseado un grupo hidroxilo presente en el radical alcohileno A así como el grupo -NHR, y en el caso en que Z signifique un radical reactivo, se intercambia éste posteriormente por la agrupación -NHR y a continuación se separan eventualmente los grupos protectores de modo conocido, así como porque los compuestos obtenidos de este modo se transforman en caso deseado en sus sales farmacológicamente compatibles.

20 La preparación de las sustancias según el invento de la fórmula general I se efectúa según los métodos generalmente habituales de la química de los péptidos. Preferentemente se trabaja en presencia de disolventes inertes (por ejemplo dioxano)



y de agentes separadores de agua (por ejemplo dicitclohexilcarbo-
diimida) a la temperatura ambiente.

Como grupos protectores intermedios para los sustituyentes hidroxil en compuestos de las fórmulas generales II y III
5 pueden utilizarse los grupos protectores de hidroxil usuales, por ejemplo el grupo bencilo o benciloxicarbonilo.

El radical carboxil de la L-3-(3,4-dihidroxil-fenil)-2-metil-alanina de la fórmula II puede ser protegido por ejemplo por esterificación, preferiblemente con un alcohol alifático inferior o con alcohol bencilico.
10

La protección intermedia de la agrupación -NHR puede efectuarse mediante los grupos protectores de amino usuales, por ejemplo mediante el grupo benciloxicarbonilo.

Como derivados reactivos de los ácidos carboxílicos de la fórmula general III se emplean preferentemente los halogenuros de ácido, los anhídridos de ácido o los ésteres de ácido carboxílico.
15

Radicales reactivos Z en compuestos de la fórmula general III son especialmente radicales de ácidos, por ejemplo de hidrácidos halogenados y de ácidos sulfónicos.
20

Los compuestos obtenidos por el procedimiento según el invento de la fórmula general I poseen carácter anfótero. Por lo tanto, pueden formar sales farmacológicamente compatibles tanto con ácidos como con bases. Para la preparación de sales por adición de ácido se hacen reaccionar los compuestos según
25 el invento, preferiblemente en un disolvente orgánico, con la cantidad equivalente de un ácido orgánico o inorgánico-farmaco-



lógicamente compatible, tal como por ejemplo ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido acético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido benzoico, etc. La neutralización del grupo carboxilo puede efectuarse, por ejemplo, por reacción con bases de la serie de los metales alcalinos o de los metales alcalino-térreos, con amoníaco o con aminas orgánicas.

Para la preparación de medicamentos, las sustancias I son mezcladas de modo en sí conocido con sustancias excipientes farmacéuticas, sustancias aromáticas, saporíferas y colorantes apropiadas, y por ejemplo se moldean en forma de tabletas o de grageas, o se suspenden o disuelven, con adición de sustancias auxiliares adecuadas, en agua o en aceite, por ejemplo en aceite de oliva.

Se prefiere en el sentido de la presente solicitud, aparte de los compuestos mencionados en los siguientes ejemplos, el seguidamente citado:

Glicil-glicil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina.

En los siguientes ejemplos, las nuevas sustancias y los modos de procedimiento según el invento para la preparación de los mismos se explican con mayor detalle. En este caso se utilizan las siguientes abreviaturas:

DC = Cromatografía en capa delgada;

DCC= N,N'-díciclohexilcarbodiimida

Cbo = Benciloxycarbonilo

THF = Tetrahidrofurano



Ejemplo 1.

Glicil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

Variante I:

5 11,25 g (0,05 moles) de éster metílico de L-3(3,4-
dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina (punto de fusión: 164-166°C,
 $[\alpha]_D^{20} = 6,3^\circ$ (c = 1, en HCl 1 N) son suspendidos en 250 ml de
dioxano absoluto, en un matraz de tres bocas de 500 ml, que está
10 provisto con agitador y tubo con cloruro de calcio (de deseca-
ción). Sucesivamente se añaden 12,52 g (0,06 moles) de bencil-
oxicarbonil-glicina y 10,3 g (0,05 moles) de N,N'-diciclohexil-
carbodiimida (DCC) y se agita a temperaturas ambientes excluyen-
do la humedad. Ya después de unos pocos minutos comienza a sepa-
rarse por cristalización N,N'-diciclohexilurea.

15 Después de agitar durante 4 horas más y de reposar du-
rante 16 horas a la temperatura ambiente, la urea es filtrada
con succión (10,0 g, 89,4%) y el producto filtrado es concentra-
do por evaporación en vacío. El residuo fuertemente viscoso es
recogido en 150 ml de acetato de etilo y es lavado sucesivamente
20 cuatro veces con 20 ml de solución aproximadamente al 5% de bi-
carbonato de sodio, cuatro veces con 20 ml de ácido clorhídrico
1 N y luego dos veces con 30 ml de agua. La fase en acetato de
etilo, que contiene el deseado producto de la reacción, es con-
centrado por evaporación en vacío después del secado con sulfato
de sodio. Se obtienen 20,82 g (100,0% de la teoría) de éster
25 metílico de benciloxicarbonil-glicil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)
-2-metil-alanina en forma de polvo amorfo incoloro, que (ensaya-
do por cromatografía en capa delgada) sólo está ligeramente im-
purificado.



Para la purificación total se puede disolver el producto bruto en 100 ml de mezcla de cloroformo-metanol (15:1) y se puede cromatografiar sobre una columna (de 90 x 5,5 cm) con gel de sílice 60 (mallas 70-230, Merck) con la misma mezcla de eluyentes. Rendimiento: 17,5 g (84,1% de la teoría) de polvo amorfo, incoloro.

Para la hidrólisis del grupo éster metílico se vierten en un matraz de tres bocas, que está provisto con agitador, embudo de goteo y una conducción de introducción de gas, 10,4 g (0,025 moles) de benciloxicarbonil-glicil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina. Después de la total eliminación del aire mediante una débil corriente de nitrógeno, se hacen afluir a través del embudo de goteo 95 ml de lejía de sosa 1 N y se agita la solución durante 30 minutos a la temperatura ambiente. Después de ello se agregan gota a gota 95 ml de ácido clorhídrico 1 N. El producto bruto de la hidrólisis se separa en forma de aceite muy viscoso, que se recoge en 100 ml de acetato de etilo y para la purificación adicional es extraído tres veces a partir de la solución en acetato de etilo con 30 ml de solución al 10% de bicarbonato de sodio. A partir del extracto acuoso reunido se separa el ácido carboxílico libre mediante cuidadosa acidificación con ácido clorhídrico 1 N, se recoge en aproximadamente 100 ml de acetato de etilo y se seca con sulfato de sodio. Tras la completa separación por destilación del disolvente en vacío se obtienen 9,0 g (89,5% de la teoría) de benciloxicarbonilglicil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina homogénea según cromatografía en capa delgada (DC), en forma de espuma amorfa e incolora.



Para la hidrogenólisis del grupo benciloxycarbonilo (Cbo) se hidrogenan previamente 2,5 g de óxido de paladio en 130 ml de metanol a la temperatura ambiente y bajo presión normal. Luego se agrega la solución de 20,12 g (0,05 moles) de bencibxicarbonilglicil-L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina en 170 ml de metanol y se hidrógená a la temperatura ambiente de modo usual durante aproximadamente 4 horas, haciendo pasar hidrógeno a su través hasta la terminación de la separación de dióxido de carbono. Luego el catalizador es filtrado con succión y el disolvente es separado por destilación en vacío. Se obtienen 13,45 g (100% de la teoría) de producto bruto amorfo incoloro, que es recogido en 28 ml de agua y enfriado a 0°C. A partir de la solución cristalizan 11,88 g de glicil-L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina dihidratada, pura según cromatografía en capa delgada y según análisis, punto de fusión : 187°C, $[\alpha]_D^{20} -8,0^\circ$ (c = 1, en H₂O).

Variante II:

En un matraz de cuatro bocas de 2 litros, provisto de agitador, 2 embudos de goteo, conducción de introducción de gas, electrodo de pH y termómetro, se mezclan 45 g (0,2 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina con 300 ml de agua y 500 ml de cloroformo y se enfrían a 0°C con vigorosa agitación. Luego se añaden gota a gota, en el espacio de 1 hora, 12,34 g (0,11 moles) de cloruro de cloroacetilo disueltos en 12 ml de cloroformo. Después de 45 minutos más se introduce una débil corriente de nitrógeno para el desplazamiento del aire y se añaden gota a gota alternativamente 14,8 g (0,13



moles) de cloruro de cloroacetilo disueltos en 15 ml de cloroformo y la solución de 36,96 g (0,26 moles) de carbonato de sodio en 118 ml de agua a 0°C en el espacio de 1,25 horas (pH de la solución 7,5-8,5). Se continúa agitando durante 1,5 horas sin enfriamiento. Después de ello se filtra con succión el éster metílico que no ha reaccionado (20,0 g = 44,4%) y la solución en cloroformo se separa y se lleva hasta sequedad.

Se obtienen 33,0 g (54,8% de la teoría) de éster metílico de N-cloroacetil-L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina en forma de aceite viscoso amarillento.

30,17 g (0,1 moles) de éster metílico son hidrolizados a la temperatura ambiente durante 1 hora en una atmósfera de nitrógeno en 305 ml de lejía de sosa 1 N, luego se neutraliza con aproximadamente 77 ml de ácido clorhídrico 4 N y el aceite separado se extrae dos veces con 150 ml de acetato de etilo. El extracto secado con sulfato de sodio es concentrado por evaporación en vacío. Se obtienen 26,1 g (91,0% de la teoría) de N-cloroacetil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en forma de aceite amarillento.

28,7 g (0,1 moles) de N-cloroacetil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son disueltos en una atmósfera de nitrógeno en 260 ml de amoníaco concentrado y se hacen reaccionar a la temperatura ambiente durante 5 días. Después de ello se concentra por evaporación en vacío y el producto bruto se purifica por cromatografía en columna (columna de 60 x 6,4 cm, gel de sílice 60, Marck, agente eluyente : n-butanol-ácido acético glacial-agua 2:1:1). El eluato puro según DC proporciona, tras concentrar



por evaporación en vacío y recristalizar en 35 ml de agua, 22,8 g (75,0% de la teoría) de glicil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina dihidratada. Punto de fusión: 186-187°C.

Ejemplo 2.

5 L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

11,25 g (0,05 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 13,38 g (0,06 moles) de bencil-oxicarbonil-L-alanina (punto de fusión: 84-86°C, $[\alpha]_D^{20} -15,6^{\circ}$ (c = 2, ácido acético)) son hechos reaccionar con 10,3 g (0,05 moles) de DCC y sometidos a tratamiento de la misma manera que se indica en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 21,5 g (100% de la teoría) de producto bruto incoloro, que después de la purificación por cromatografía en columna proporcionan 16,51 g (76,9% de la teoría) de éster metílico de benciloxicarbonil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina pura.

10,75 g (0,025 moles) de éster metílico de benciloxicarbonil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrolizados con 95 ml de lejía de sosa 1 N durante 50 minutos a la temperatura ambiente y sometidos a tratamiento como se describe en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 9,46 g (91,0% de la teoría) de benciloxicarbonil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina homogénea según cromatografía en capa delgada (espuma incolora).

20,8 g (0,05 moles) de benciloxicarbonil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrogenados y sometidos a tratamiento para la hidrogenólisis del grupo Cbo, tal como se describe en el Ejemplo 1, I, durante 1,5 horas a la tem-



peratura ambiente. Se obtienen 13,38 g (94,7% de la teoría) de producto bruto, que recristalizados en 13,5 ml de agua proporcionan 11,7 g de L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina trihidratada analíticamente pura; punto de fusión: 82-87°C (en tubito cerrado por fusión), $[\alpha]_D^{20} -26,9^\circ$ (c = 1, en H₂O).

Ejemplo 3..

D-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

15,75 g (0,07 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 16,83 g (0,075 moles) de Cbo-D-alanina (punto de fusión 84-86°C, $[\alpha]_D^{20} + 14,8^\circ$ (c = 2, en ácido acético)) son hechos reaccionar en 350 ml de dioxano con 14,4 g (0,07 moles) de DCC y luego tratados tal como se indica en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 30,1 g (100% de la teoría) de producto bruto incoloro. La purificación por cromatografía en columna proporciona 29,1 g (96,6%) de éster metílico de bencil-oxicarbonil-D-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina pura según DC, en forma de polvo incoloro.

10,75 g (0,025 moles) de éster metílico de Cbo-D-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrolizados durante 2 horas a la temperatura ambiente, con 95 ml de lejía de sosa 1 N, y tratados tal como se describe en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 9,46 g (91,0% de la teoría) de Cbo-D-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina homogénea según CD, en forma de espuma incolora.

La hidrogenólisis del grupo Cbo se lleva a cabo con 20,8 g (0,05 moles) de Cbo-D-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil alanina y se somete a tratamiento tal como se describe.



en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 14,05 g (99,6% de la teoría) de producto bruto, que es recrystalizado en aproximadamente 20 ml de agua. Rendimiento: 8,35 g de D-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina monohidratada pura según análisis e incolora, punto de fusión 205°C, $[\alpha]_D^{20} + 33,7^\circ$ (c = 1, en H₂O).

Ejemplo 4.

L-N-metil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

15,75 g (0,07 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 18,79 g (0,077 moles) de Cbo-L-N-metil-alanina (aceite, $[\alpha]_D^{20} - 24,8^\circ$ (c = 1, en dimetil-formamida)) son hechos reaccionar con 350 ml de dioxano anhidro con 14,42 g (0,07 moles) de DCC y luego se somete a tratamiento tal como se describe en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 29,21 g (94,0% de la teoría) de producto bruto incoloro. La purificación por cromatografía en columna (agente eluyente: cloroformo-metanol 20:1) proporciona 14,18 g (46,5% de la teoría) de éster metílico de Cbo-L-N-metil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, puro según DC (polvo amorfo).

11,1 g (0,025 moles) de éster metílico de Cbo-L-N-metil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrolizados a la temperatura ambiente durante 1,5 horas y se someten a tratamiento tal como se describe en el Ejemplo 1, I. Rendimiento: 9,20 g (85,5% de la teoría) de Cbo-L-N-metil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, homogéneo según DC en forma de polvo.

La hidrogenólisis del grupo Cbo se lleva a cabo con una solución de 10,27 g (0,025 moles) de Cbo-L-N-metil-alanil--



-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en 90 ml de metanol y 30 ml de agua con 1,25 g de óxido de paladio en 100 ml de metanol y se somete a tratamiento análogamente al ejemplo 1, I. Se obtienen 7,11 g (96,0% de la teoría) de producto bruto, que es purificado por cromatografía en columna (columna de 90 x 3 cm, gel de sílice 60, mallas 70-230. Merck; agente eluyente: acetona-agua 4:1). El eluato puro según DC es concentrado por evaporación en vacío, el residuo es disuelto en un poco de agua, precipitado lentamente con etanol y concentrado por evaporación hasta sequedad. De este modo se obtienen 5,69 g (76,0% de la teoría) de L-N-metil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en forma de polvo, que después del secado a la temperatura ambiente contiene todavía 0,95 moles de agua y 0,63 moles de etanol, $\bar{a}_D^{20} + 38,9^\circ$ (c = 1, en metanol).

15

Ejemplo 5.

β -alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

15,75 g (0,07 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 17,20 g (0,077 moles) de Cbo- β -alanina (punto de fusión 106°C) son hechos reaccionar en 350 ml de dioxano con 14,4 g (0,07 moles) de DCC y se someten a tratamiento tal como se describe en el Ejemplo 1, I, rendimiento bruto 27,8 g (92,4% de la teoría) de polvo incoloro. La purificación por cromatografía en columna proporciona 15,15 g (50,3% de la teoría) de éster metílico de Cbo- β -alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, puro según DC.

25

10,75 g (0,025 moles) de éster metílico de Cbo- β -alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrolizados a la



temperatura ambiente durante 1,5 horas y se someten a tratamiento tal como se indica en el Ejemplo 1, I. Rendimiento: 8,90 g (85,6% de la teoría) de Cbo- β -alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, homogénea según DC (espuma incolora).

5 La hidrogenólisis del grupo Cbo se lleva a cabo con una solución de 12,49 g (0,03 moles) de Cbo- β -alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en 110 ml de metanol y 40 ml de agua y con 1,5 g de óxido de paladio en 100 ml de metanol, correspondientemente al Ejemplo 1, I. El catalizador filtrado
10 con succión es bien lavado con 200 ml de agua y el producto filtrado es concentrado por evaporación en vacío. Se obtienen 7,80 g (92,9% de la teoría) de producto bruto cristalizado, el cual, recristalizado en 100 ml de agua, proporciona 6,64 g (78,4% de la teoría) de β -alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina
15 dihidratada, analíticamente pura, incolora, punto de fusión: 147°C, $[\alpha]_D^{20}$ -37,7° (c = 1, en ácido acético).

Ejemplo 6.

L-seril-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina.

14,63 g (0,065 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 22,39 g (0,068 moles) de N-benciloxicarbonil-O-bencil-L-serina son hechos reaccionar en
20 325 ml de dioxano con 13,36 g (0,065 moles) de DCC y son sometidos a tratamiento tal como se indica en el Ejemplo 1, I. Rendimiento bruto: 34,15 g (100% de la teoría) de espuma incolora.
25 La purificación por cromatografía en columna (columna de 90 x 4,5 cm, gel de sílice 60 Merck; agente eluyente: cloroformo-metanol 49:1) proporciona 21,88 g (64,1% de la teoría) de éster -



metílico de N-Cbo-O-bencil-L-seril-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-
2-metil-alanina, puro según DC, en forma de polvo amorfo.

13,40 g (0,025 moles) de éster metílico de N-Cbo-O-bencil-L-seril-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son disueltos en 100 ml de THF y son hidrolizados a 35°C durante 3 horas con 50 ml de lejía de sosa 2 N, tal como se describe en el Ejemplo 1, I. Luego se neutraliza con aproximadamente 50 ml de ácido clorhídrico 2 N y se separa totalmente el THF por destilación en vacío. Después de la adición de aproximadamente 40 ml de agua, el producto bruto de la hidrólisis es recogido en 100 ml de acetato de etilo y es tratado adicionalmente, tal como se describe en el Ejemplo 1, I. Rendimiento: 10,20 g (78,4% de la teoría) de N-Cbo-O-bencil-L-seril-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, homogénea según DC (polvo incoloro).

La hidrogenólisis del grupo N-Cbo y del grupo O-bencilo se lleva a cabo correspondientemente al Ejemplo 1, I, añadiendo la solución de 13,06 g (0,025 moles) de N-Cbo-O-bencil-L-seril-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en 150 ml de dioxano y 25 ml de ácido clorhídrico 1 N a paladio recientemente hidrogenado de modo previo (1,25 g de óxido de paladio en 90 ml de dioxano y 30 ml de agua) y haciendo pasar hidrógeno a su través a 25°C durante aproximadamente 6 horas. Después de filtrar con succión el catalizador, el producto filtrado es neutralizado con alrededor de 25 ml de lejía de sosa 1 N, y es llevado hasta sequedad en vacío. El residuo se disuelve en 70 ml de agua y se enfría a 0°C para la cristalización. Se obtienen 2,24 g (30,1% de la teoría) de L-seril-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metilalanina



incolora, pura según análisis y según DC, que después del secado en el desecador de vacío contiene todavía 2,3 moles de agua, punto de fusión 196-197°C (con descomposición), $[\alpha]_D^{20} -4,4^\circ$ (c = 1, en ácido acético).

5 Ejemplo 7.

L-leucil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

Tal como se describe en el Ejemplo 1, I se someten a la síntesis de péptidos 16,90 g (0,075 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina y 21,87 g (0,083 moles) de Cbo-L-leucina ($[\alpha]_D^{20} -18,4^\circ$ (c = 1, en ácido acético)) en 380 ml de dioxano con 15,45 g (0,075 moles) de DCC. Rendimiento bruto: 35,4 g (100% de la teoría) de polvo incoloro: La purificación por cromatografía en columna (como en el Ejemplo 1, I) proporciona 21,70 g (61,4% de la teoría) de éster metílico de Cbo-L-leucil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, puro según DC, en forma de polvo amorfo.

18,88 g (0,04 moles) de éster metílico de Cbo-L-leucil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrolizados a la temperatura ambiente durante 2 horas con 152 ml de lejía de sosa 1 N y luego se someten a tratamiento tal como se indica en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 14,32 g (78,2% de la teoría) de Cbo-L-leucil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metilalanina homogénea según CD, en forma de polvo amorfo.

La separación del grupo Cbo se lleva a cabo tal como en el Ejemplo 1, I. 2,0 g de óxido de paladio son hidrogenados previamente en 110 ml de metanol y 25 ml de agua. A esto se agrega la solución de 18,34 g (0,04 moles) de Cbo-L-leucil-L-3-(3,4



-dihidroxi-fenil)-2--metil-alanina en 120 ml de metanol y 50 ml de agua, y se hidrogena durante 2 horas. Después del tratamiento se obtienen 13,0 g (100% de la teoría) de producto bruto, que es recristalizado en 30 ml de agua. Rendimiento: 8,34 g de L-leucil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina incolora, pura según DC y análisis, que después del secado en el desecador de vacío contiene todavía 2,5 moles de agua, punto de fusión: 106-107°C (en tubito cerrado por fusión), $[\alpha]_D^{20} -21,4^\circ$ (c = 1, en H₂O).

10

Ejemplo B.

L-fenilalanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

Tal como se describe en el Ejemplo 1, I se someten a la síntesis de péptidos 15,78 g (0,07 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina y 23,92 g (0,08 moles) de Cbo-L-fenil-alanina (punto de fusión: 85-87°C, $[\alpha]_D^{20} + 4,6^\circ$ (c = 1,5, en ácido acético)) en 350 ml de dioxano con 14,42 g (0,07 moles) de DCC. Rendimiento bruto 35,45 g (100% de la teoría) de espuma incolora. La purificación por cromatografía en columna (llevada a cabo como en el Ejemplo 1, I) proporciona 33,67 g (95% de la teoría) de éster metílico de Cbo-L-fenil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en forma de polvo amorfo.

15

20

25

20,26 g (0,04 moles) de éster metílico de Cbo-L-fenil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrolizados a la temperatura ambiente durante 3 horas con 152 ml de lejía de sosa 1 N y son sometidos a tratamiento de modo correspondiente al Ejemplo 1, I. Se obtienen 16,35 g (83% de la teoría) de Cbo-



-L-⁴fenilalanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en forma de polvo amarillento, homogéneo según DC.

19,70 g (0,04 moles) de Cbo-L-fenilalanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrogenados a la temperatura ambiente durante 5 horas para la hidrogenólisis del grupo Cbo (con 2,0 g de óxido de paladio en 230 ml de metanol) y son sometidos a tratamiento tal como se indica en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 14,08 g (98,1% de la teoría) de producto bruto. La sustancia es disuelta y precipitada de nuevo en una solución alcohólica con éter, y es secada durante 2 horas a 80°C en el vacío de bomba de aceite, sobre pentóxido difosfórico. Rendimiento: 9,61 g de L-fenilalanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina monohidratada pura, punto de fusión: 160-163°C (con descomposición), $[\alpha]_D^{20} + 8,1^\circ$ (c = 1, en metanol).

Ejemplo 9.

L-tirosil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

9,0 g (0,04 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 22,08 g (0,063 moles) de N-Cbo-L-tirosina dihidratada ($[\alpha]_D^{20} + 3,8^\circ$ (c = 1,5, en ácido acético)) son hechos reaccionar en 200 ml de dioxano con 11,3 g (0,055 moles) de DCC y son sometidos a tratamiento y cromatografiados en columna, tal como se indica en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 19,7 g (94,2% de la teoría) de éster metílico de Cbo-L-tirosil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina (polvo incoloro).

20,90 g (0,04 moles) de éster metílico de N-Cbo-L-tirosil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidroliza-



dos a la temperatura ambiente durante 2,5 horas con 192 ml de lejía de sosa 1 N y son sometidos a tratamiento de modo correspondiente al Ejemplo 1, I. Se obtienen 18,20 g (89,5% de la teoría) de Cbo-L-tirosil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, homogénea según DC (polvo incoloro).

La hidrogenólisis del grupo Cbo se lleva a cabo como en el Ejemplo 1, I. 1,5 g de óxido de paladio son hidrogenados previamente en 100 ml de metanol y 20 ml de agua. A esto se añade una solución de 15,25 g (0,03 moles) de N-Cbo-L-tirosil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina en 150 ml de metanol y 30 ml de agua y se hidrogena durante 3 horas. Después del tratamiento se obtienen 10,4 g (92,5% de la teoría) de producto bruto incoloro, que es recristalizado en 20 ml de agua. Rendimiento 8,1 g (72,6% de la teoría) de L-tirosil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, pura según DC y análisis, punto de fusión 205°C (con descomposición, al calentar rápidamente), $[\alpha]_D^{20} + 6,5^\circ$ (c = 1, en metanol).

Ejemplo 10.

L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina.

13,50 g (0,06 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 22,80 g (0,066 moles) de N-Cbo-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hechos reaccionar en 300 ml de dioxano con 12,36 g (0,06 moles) de DCC y son sometidos a tratamiento como en el Ejemplo 1, I. La purificación por cromatografía en columna del producto bruto (columna de



5 90 x 5,5 cm, gel de sílice 60 Merck; agente eluyente cloroformo-
metanol 10:1) proporciona 10,62g(32,1% de la teoría) de éster
metílico de N-Cbo-L- β -(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanil- β -
L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina puro según DC en forma
de polvo.

10 22,10 g (0,04 moles) de este éster son hidrolizados
a la temperatura ambiente durante 3,5 horas con 232 ml de lejía
de sosa 1 N y son sometidos a tratamiento de modo correspondien-
te al Ejemplo 1, I. Se obtienen 16,5 g (76,7% de la teoría) de
N-benciloxicarbonil-L- β -(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanil- β -
L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina (=N-Cbo-L- α -metil-dopil-
-L- α -metil-dopa), homogénea según DC.

15 La hidrogenólisis del grupo Cbo se lleva a cabo como
en el Ejemplo 1, I. 1,25 g de óxido de paladio son hidrogenados
previamente en 100 ml de metanol y 30 ml de agua. A esto se añe-
de una solución de 13,46 g (0,025 moles) de N-Cbo-L- α -metil-
dopil-L- α -metil-dopa en 90 ml de metanol y se hidrogena durante
3-4 horas. Después del tratamiento se obtiene un producto bruto
parduzco, que es purificado por cromatografía en columna (colum-
na de 90 x 5,5 cm, gel de sílice 60 Merck; agente eluyente: ace-
20 tona-agua 8:1). El eluato puro según DC, recogido, es concentrado
por evaporación en vacío, recogido en 50 ml de agua, tratado con
algo de carbón y llevado hasta sequedad en vacío. Se obtienen
5,38 g de L- β -(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanil- β -L-3-(3,4-
25 dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina (= L- α -metil-dopil-L- α -metil-
dopa) analíticamente pura, en forma de polvo, que después del
secado en el desecador de vacío contiene todavía 2,36 moles de



1976

agua, $[\alpha]_D^{20} = + 34,4^\circ$ ($c = 1$, en N_2O).

La N-Cbo-L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina utilizada como material de partida puede ser preparada del siguiente modo:

5 En un matraz de tres bocas de 1 litro, que está provisto con agitador, 2 embudos de goteo y una conducción para introducción de gas se añaden 23,8 g de L-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-metil-alanina (contenido de agua 11,8%, peso molecular 238). Después de la total eliminación de aire mediante una débil corriente de nitrógeno se hacen afluir a través del embudo de goteo, enfriando con hielo, 150 ml de lejía de sosa 2 N, y la solución se enfría a 0°C. En el espacio de 25 minutos se añaden
10 gota a gota, con intensa agitación y enfriando con hielo, alternativamente, en pequeñas porciones, una solución de 66 ml de éster bencílico de ácido clorofórmico en 66 ml de tolueno y 150 ml
15 de lejía de sosa 2 N. Después de agitar durante 30 minutos más se acidifica débilmente con ácido clorhídrico 6 N y el producto de reacción se extrae tres veces con 200 ml de éter. El extracto en éter se agita tres veces cada vez con 50 ml de ácido clorhídrico
20 0,5 N, y la solución en éter, después del secado con sulfato de sodio, se concentra por evaporación en vacío. Se obtienen 59,57 g (97,4% de la teoría) de N-benciloxicarbonil-L-3-(3,4-dibenciloxicarboniloxifenil)-2-metil-alanina en forma de resina amarillenta, pura según DC y análisis.

25 La separación de los dos grupos O,O'-Cbo se lleva a cabo con los aparatos y según el modo de trabajo que se indican en el Ejemplo 1, I, 12,26 g (0,02 moles) de N-benciloxicarbonil-



-L-3-(3,4-di-benciloxi-carboniloxi-fenil)-2-metil-alanina son disueltos en 550 ml de THF y 890 ml de agua y son hidrolizados a la temperatura ambiente durante una hora con 160 ml de lejía de sosa 1 N. Luego se neutraliza con aproximadamente 160 ml de ácido clorhídrico 1 N y el THF se separa totalmente por destilación en vacío. Después de la adición de aproximadamente 40 ml de agua, el producto bruto de la hidrólisis se recoge en 100 ml de acetato de etilo y se somete a tratamiento adicionalmente como se describe en el Ejemplo 1, I. Se obtienen 5,80 g (84,1% de la teoría) de N-Cbo-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina homogénea según DC, en forma de aceite amarillento muy viscoso.

Ejemplo 11.

L-alanil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina

11,25 g (0,05 moles) de éster metílico de L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina y 16,18 g (0,055 moles) de Cbo-L-alanil-L-alanina (punto de fusión 152-153°C, $[\alpha]_D^{20} -34,5^\circ$ (c = 1, en metanol) son sometidos a una síntesis de péptidos, tal como se describe en el Ejemplo 1, I, en 250 ml de dioxano con 10,3 g (0,05 moles) de DCC, y luego son sometidos a tratamiento y purificados. Se obtienen 11,76 g (46,9% de la teoría) de éster metílico de Cbo-L-alanil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina, puro según DC, en forma de polvo.

12,5 g (0,025 moles) de éster metílico de Cbo-L-alanil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina son hidrolizados a la temperatura ambiente durante 50 minutos con 190 ml de lejía de sosa 0,5 N y se someten a tratamiento tal como se describe en el Ejemplo 1, I. Rendimiento: 4,90 g (40,3% de la



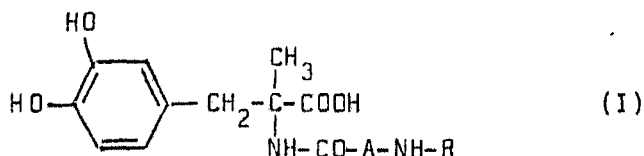
teoría) de N-Cbo-L-alanil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-
2-metil-alanina, homogénea según DC.

La hidrogenólisis del grupo Cbo se efectúa análoga-
mente al Ejemplo 1, I. 1,0 g de óxido de paladio son hidrogena-
dos previamente en 50 ml de metanol y 5 ml de agua. A esto se
añade una solución de 9,75 g (0,02 moles) de N-Cbo-tripéptido
en 80 ml de metanol y se hidrogena durante 3-4 horas. El produc-
to bruto incoloro es purificado según cromatografía en columna
(columna de 90 x 3,5 cm, gel de sílice 60 Merck; agente eluyente:
acetona-agua 4:1). El eluato puro según DC es concentrado por
evaporación en vacío y es secado en el desecador. Se obtienen
6,14 g de L-alanil-L-alanil-L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-
alanina pura según análisis, en forma de polvo amarillento, que
contienen 1,78 moles de agua, $\bar{\alpha}_D^{20} + 20,5^\circ$ (c = 1, en meta-
nol).

-- N O T A --

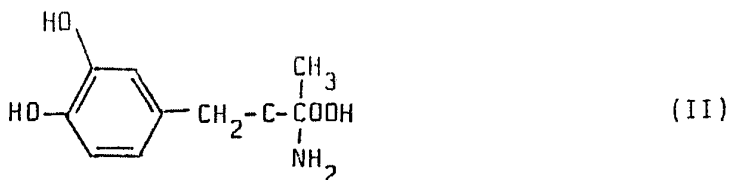
Se reivindica como nuevo y de propia invención.

1. Procedimiento para la preparación de péptidos de L-3-(3,4-
dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina de la fórmula general I





en la que A significa una cadena alcohileno saturada, recta o ramificada, que puede estar sustituida con un grupo hidroxilo con un radical fenilo que eventualmente lleva grupos hidroxilo, y R significa un átomo de hidrógeno, un grupo alcohilo inferior, o un radical glicilo o alanilo, así como de sales farmacológicamente compatibles de los mismos, caracterizado porque se condensa L-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-2-metil-alanina de la fórmula II



cuyos grupos hidroxilo y/o cuyo radical carboxi pueden ser protegidos eventualmente de modo intermedio, con ácidos carboxílicos de la fórmula general III



o con derivados reactivos de éstos, en la que A tiene los significados arriba indicados y Z significa un radical reactivo o el grupo -NHR, en que R tiene los significados antes mencionados, pudiendo ser protegido en caso deseado de modo intermedio un grupo hidroxilo presente en el radical alcohileno A así como el grupo -NHR, y en el caso en que Z significa un radical reactivo, se intercambia éste posteriormente por la agrupación -NHR, y a continuación se separa eventualmente los grupos protectores, así como porque en caso deseado se transforman los compuestos así obtenidos, en sus sales farmacológicamente compatibles.



2. PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PEPTIDOS DE L-3-(3,4-
-DIHIDROXI-FENIL)-2-METIL-ALANINA".

Tal como se describe y reivindica en la presente Memoria Descriptiva, que consta de veinticinco hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 10 MAR 1970
CARLOS FERNANDEZ GONZALEZ
F. P.