



ESPAÑA

(19) ES	(11) NUMERO 463682	(10) A1
(21)	(22) FECHA DE PRESENTACION 28-10-77	

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES: (31) NUMERO 76-35533 parcial	(32) FECHA 25-11-76	(33) PAIS Francia
------------------------------------------------------	------------------------	----------------------

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL C07H // A61K	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
--------------------------	--------------------------------------------------	----------------------------------------

(54) TITULO DE LA INVENCION
"PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DE LA
COENZIMA B₁₂"

(71) SOLICITANTE (S)
ROUSSEL-UCLAF 1768 E

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
35 Boulevard des Invalides, 75323 París, Francia

(72) INVENTOR (ES)
Denise Autissier y Pierre Barthelemy

(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE
D. OSCAR DE ELZABURU FERNANDEZ (P.- 67.330)

1 El presente invento se refiere a un procedimiento de preparación de nuevos derivados de la coenzima B₁₂.

5 Se sabe que la vitamina B₁₂ juega un papel muy importante en el organismo humano en el transcurso de diversos procesos bioquímicos que necesitan la presencia de esta vitamina. Igualmente se sabe que esta vitamina no es directamente activa y que se transforma al nivel de la célula hepática en coenzima de la vitamina B₁₂.

10 Esta coenzima de la vitamina B₁₂ es particularmente indispensable en el organismo humano, puesto que favorece y acelera las reacciones enzimáticas que condicionan la síntesis de las proteínas, lipoproteínas y nucleoproteínas.

15 Cuando es deficiente la célula hepática, puede ser interesante administrar esta coenzima por vía oral o por vía parenteral.

20 Esta administración de la coenzima de la vitamina B₁₂, denominada igualmente dibencozida, no permite obtener más que durante algunas horas a lo sumo, índices sanguíneos significativamente superiores a los índices fisiológicos; por esto, las administraciones de dibencozida deben tener lugar de forma repetida cada poco tiempo.

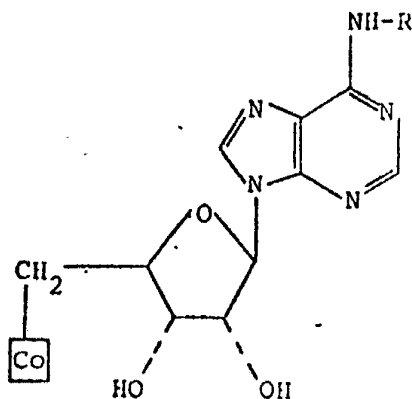
25 Por último se sabe que se han intentado modificaciones de las formas galénicas, sin gran éxito, para tratar de distribuir con el tiempo la duración de la acción de esta coenzima de la vitamina B₁₂.

Principalmente debido a la débil estabilidad inherente a la molécula por sí misma, estas modificaciones no han dado los resultados esperados.

30 La Sociedad Solicitante se ha dirigido así a in-

1 vestigar la modificación de la estructura química de la
 coenzima de la vitamina B₁₂, para obtener un producto que,
 manteniendo la actividad de la molécula inicial, presente
 una duración de la acción escalonada en el tiempo; y ha
 5 encontrado que la introducción de ciertos grupos acilos en
 el grupo 6-amino de la purina de la dibencozida conducía a
 este resultado.

La presente solicitud tiene pues por objeto un
 procedimiento de preparación de nuevos derivados de la
 10 coenzima B₁₂, de fórmula general I:



15 en la que R representa un radical acilo que tiene de 4 a
 20 átomos de carbono y Co representa el grupo α -(5,6-
 20 -dimetilbencimidazolil)-cobamida.

En la fórmula I y en lo que sigue, el radical
 acilo que contiene de 4 a 20 átomos de carbono designa,
 por ejemplo, un radical butirilo, valerilo, pivaloilo, ca-
 25 proilo, capriloilo, caprilo, lauroilo, miristoilo, palmi-
 toilo, estearoilo o eicosanoilo.

Entre los nuevos derivados de la coenzima B₁₂,
 obtenidos por el procedimiento del invento, se pueden ci-
 tar principalmente los que responden a la fórmula general
 30 I anterior, caracterizándose dichos derivados porque R re-

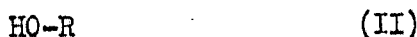
1 presenta un radical acilo que contiene de 14 a 18 átomos de carbono.

Entre los productos preferidos, se citan más particularmente la Co- α -/ α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co β -N-palmitoiladenosil-cobamida, la Co- α -/ α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co β -N-estearoil-adenosil-cobamida, así como la Co- α -/ α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co β -N-miristoil-adenosil-cobamida.

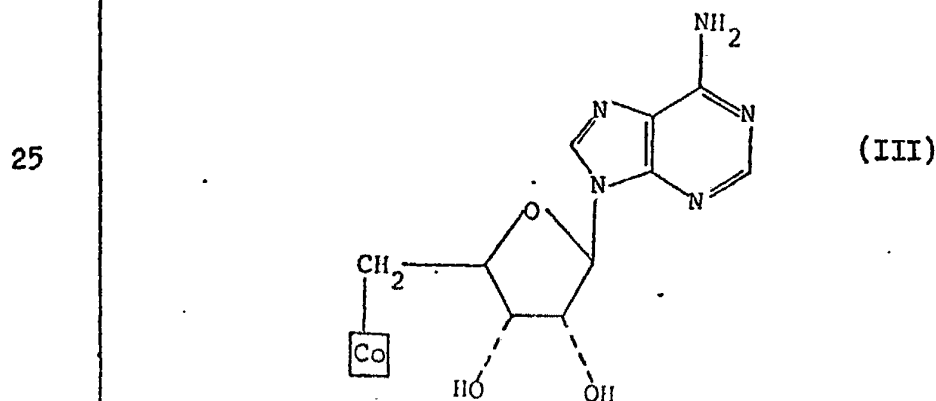
10 Igualmente se puede citar la Co- α -/ α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co β -N-caproil-adenosil-cobamida.

La nomenclatura utilizada es la preconizada por la comisión IUPAC-IUB sobre la nomenclatura bioquímica, publicada en "Archives of Biochemistry and Biophysics 161, iii-xi (1974)".

15 El procedimiento de preparación de los derivados de la coenzima B₁₂ de fórmula general I se caracteriza porque se hace reaccionar, al abrigo de la luz, el derivado funcional de un ácido de fórmula II:



20 en la que R representa un radical acilo que contiene de 4 a 20 átomos de carbono, con la dibencozida que responde a la fórmula III:



1 - en la que Co tiene el significado ya indicado, en presencia de un agente alcalino, para obtener el producto de fórmula I buscado.

5 En las condiciones preferidas de puesta en práctica del invento, el procedimiento de preparación antes descrito se caracteriza porque:

a) El derivado funcional del ácido de fórmula II es el cloruro de ácido, el anhídrido de ácido, un anhídrido mixto, un éster de alcohol inferior o un sulfonato;

10 b) La reacción del derivado funcional del ácido de fórmula II con la dibencozida de fórmula III se efectúa en el seno de un disolvente hidroorgánico, tal como la mezcla agua-dioxano.

c) El agente alcalino es un carbonato alcalino, tal como el carbonato o el bicarbonato de sodio.

15 Los productos, obtenidos por el procedimiento del invento, poseen propiedades farmacológicas muy interesantes; están dotados principalmente de las mismas propiedades farmacológicas que la dibencozida.

20 En particular, como ésta, están dotados de propiedades anabolizantes protídicas y antálgicas cuando están presentes en la sangre en concentraciones superiores a las concentraciones fisiológicas. Con relación a la dibencozida, los productos obtenidos por el procedimiento de la presente solicitud presentan además la ventaja de asegurar índices sanguíneos elevados y duraderos.

25 Así es como principalmente la $\text{Co}-\alpha-\alpha-(5,6\text{-dimetil-bencimidazolil})/\text{Co } \beta\text{-N-palmitoil-adenosil-cobamida}$, la $\text{Co}-\alpha-\alpha-(5,6\text{-dimetil-bencimidazolil})/\text{Co } \beta\text{-N-miristoil-adenosil-cobamida}$ y la $\text{Co}-\alpha-\alpha-(5,6\text{-dimetil-bencimida-}$,

1 - zolil)/Co β -N-estearoil-adenosil-cobamida permiten obtener
índices sanguíneos elevados durante al menos 12 a 24 horas,
después de administración por vía subcutánea. Administrada
en las mismas condiciones, la dibencozida no da más que ín-
5 dices menos elevados durante tiempo mucho menor.

Estas propiedades justifican la utilización de
los derivados de la coenzima B₁₂, de fórmula I, como medi-
camentos.

10 Entre estos medicamentos, se encuentran más par-
ticularmente los derivados de la coenzima B₁₂ que respon-
den a la fórmula I, en la que R representa un radical aci-
lo que contiene de 14 a 18 átomos de carbono.

15 Entre estos últimos medicamentos, se encuentra
principalmente un medicamento de acción distribuida en el
tiempo, caracterizado porque está constituido por la Co- α '
-/ α '-(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co β -N-palmitoil-adenosil-cobamida o por la Co- α '-/ α '-(5,6-dimetilbencimidazolil)
/Co β -N-estearoil-adenosil-cobamida, administradas por vía
parenteral.

20 Estos medicamentos encuentran, por ejemplo, su
empleo en el tratamiento de la anorexia, del adelgazamien-
to, de la hipotrepsia, de los retardos en el crecimiento,
la astenia en el bebé y el niño, en el tratamiento de es-
tados de desnutrición, astenia física y psíquica, transtor-
25 nos tróficos en la vejez, así como en el tratamiento de
las algias reumáticas y algias de orígenes diversos.

30 La dosis usual, variable según el producto utili-
zado, el sujeto tratado y la afección objeto, puede ser
por ejemplo de 1 a 30 mg a razón de una inyección intramus-
cular, una a tres veces por semana en el hombre.

1 Los nuevos derivados de la coenzima B₁₂ de fórmula general I, pueden emplearse para preparar composiciones farmacéuticas que contienen, como principio activo, al menos uno de los derivados antes citados.

5 Como medicamentos, los derivados que responden a la fórmula I anterior, pueden incorporarse en las composiciones farmacéuticas destinadas a la vía digestiva o parenteral.

10 Estas composiciones farmacéuticas pueden ser, por ejemplo, sólidas o líquidas y presentarse en las formas farmacéuticas corrientemente utilizadas en medicina humana, como por ejemplo, comprimidos, simples o en grageas, cápsulas de gelatina, cápsulas, granulados, preparaciones inyectables; las cuales se preparan según los métodos usuales.

15 El o los principios activos pueden incorporarse en excipientes habitualmente empleados en estas composiciones farmacéuticas, tales como talco, goma arábiga, lactosa, almidón, estearato de magnesio, vehículos acuosos o no, cuerpos grasos de origen animal o vegetal, derivados parafínicos, glicoles, diversos agentes humectantes, dispersantes o emulsificantes, conservadores.

20 Ni que decir tiene que la dibencozida utilizada como producto de partida puede obtenerse por cualquier procedimiento descrito en la bibliografía.

25 A continuación se dan, como no limitativos, Ejemplos de puesta en práctica del invento.

Ejemplo 1: La Co- α -/ α -(5,6-dimetilbencimidazolil)/Co β -N-palmitoiladenosil-cobamida (a continuación denominada N-palmitoil-dibencozida.

30 En lo que sigue, todas las operaciones se efectúan

1 - tuan al abrigo de la luz.

Se mezclan con agitación 1,58 g de dibencozida seca, 16 cm³ de una solución acuosa de carbonato disódico al 1,325%, 144 cm³ de agua y 450 cm³ de dioxano.

5 A la solución obtenida, se añade con agitación y en dos veces a intervalos de 30 minutos, 6,4 cm³ de cloruro de palmitoilo en solución al 10% (volumen/volumen) en dioxano. Se agita durante 30 minutos, se añaden 16 cm³ de una solución acuosa de carbonato disódico al 1,325%, y luego de nuevo, con agitación y en dos veces a intervalos de 30 minutos, 6,4 cm³ de cloruro de palmitoilo en solución al 10% (volumen/volumen) en dioxano.

10 Se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 68 horas, se concentra bajo vacío y se obtiene la N-palmitoil-dibencozida en forma de un extracto seco impuro.

Purificación:

15 Se recoge el extracto seco obtenido antes con 158 cm³ de agua, se acidifica a pH 5 por adición de ácido sulfúrico N, se lava con éter, se reajusta el pH a 5 y se lava de nuevo la fase acuosa varias veces con éter.

20 Se reajusta el pH de la fase acuosa a 8,2 por adición de lejía de sosa y se extrae repetidas veces con la mezcla fenol-dicloroetano (1-15). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con agua y se obtienen 142 cm³ de una fase orgánica que contiene el derivado esperado.

25 Se efectúa un retorno a la fase acuosa del derivado esperado por adición a la fase orgánica lavada de 3 volúmenes de metiletilcetona y un volumen de agua y se recoge la fase acuosa. Se extrae de nuevo la fase orgánica

1 residual con la fase inferior de la mezcla de dicloroetano-
metiletilcetona-agua (1-3-1) y se recoge la fase acuosa.

Se reunen las fases acuosas, se lavan con la fase superior de la mezcla dicloroetano-metiletilcetona-agua (1-3-1), se concentra bajo vacío y luego se liofiliza.

Finalmente se recogen 232 mg de N-palmitoil-dibenzoizida en forma de un polvo rojo anaranjado.

Análisis: $C_{88}H_{130}N_{18}O_{18}P.Co = 1820$

10 Calculado: C% 58,07 H% 7,2 N% 13,9
Encontrado: 56,1 7,3 12,2

Ejemplo 2: La Co- α -/ α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co/ β -
-N-caproil-adenosil-cobamida (a continuación denominada
N-caproil-dibenzoizida.

15 Se mezcla al abrigo de la luz, 5 g de dibenzoizida
seca, 50,6 cm³ de una solución acuosa de carbonato disódico
al 1,325%, y 15,5 cm³ de una solución de anhídrido caproico
al 10% en dioxano.

20 Se agita 6 horas a temperatura ambiente y se añaden
de nuevo 15,5 cm³ de una solución de anhídrido caproico
al 10% en dioxano.

25 Se mantiene con agitación durante todavía 65 horas
más, y luego se aísla el precipitado formado por centrifugación
y se seca bajo vacío. Se aíslan 5,28 g del derivado bruto que se
disuelve en 530 cm³ de la mezcla fenol-dicloroetano (1 - 7).
Se lava con agua la solución orgánica obtenida y se efectúa un
retorno a la fase acuosa del derivado obtenido por adición de
tres volúmenes de metiletilcetona y un volumen de agua.

30 A partir de la solución acuosa obtenida, se ex-
10107

1 trae de nuevo el derivado con un volumen de la mezcla fenol-
-dicloroetano (1-10). Se lava con agua la fase orgánica ob-
tenida y se efectúa un retorno a la fase acuosa del deriva-
do por adición de tres volúmenes de metiletiletona y un
5 volumen de agua. Finalmente se recogen, después de liofi-
lización, 940 mg de N-caproil-dibencozida.

Ejemplo 3: La Co- α -/ α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co- β -
-N-miristoil-adenosil-cobamida (a continuación denominada
N-miristoil-dibencozida).

10 En lo que sigue, todas las operaciones se efec-
tuan al abrigo de la luz.

Se mezclan con agitación 1,58 g de dibencozida
seca, 32 cm³ de una solución acuosa de carbonato disódico
al 1,325%, 144 cm³ de agua destilada y 320 cm³ de dioxano.

15 A la solución obtenida, se añaden con agitación
10,8 cm³ de una solución acuosa al 10% de cloruro de mi-
ristoilo en dioxano (volumen/volumen). Se agita durante 15
minutos, y a continuación se añaden de nuevo 32 cm³ de una
solución acuosa de carbonato disódico al 1,325% y 10,8 cm³
20 de una solución al 10% de cloruro de miristoilo en dioxano
(volumen/volumen). Se agita durante 1 hora y 45 minutos más,
se concentra bajo vacío y se obtiene la N-miristoil-diben-
cozida en forma de una solución impura.

Purificación:

25 Se acidifica a pH 5 por adición de ácido sulfúri-
co N la solución impura antes obtenida, se destila hasta
sequedad bajo vacío, se recoge el extracto seco con 158
cm³ de agua, se reajusta el pH a 5 y se lava la fase acuo-
sa varias veces con éter.

Se reajusta el pH de la fase acuosa a 8,2 por

1 -adición de una solución de sosa N y se extrae repetidas veces con la mezcla fenocloroetano (1-15). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con agua y se obtienen 212 cm³ de una fase orgánica que contiene el derivado esperado.

5 Se efectúa un retorno a la fase acuosa del derivado esperado por adición a la fase orgánica lavada de 3 volúmenes de metiletilcetona y un volumen de agua y se recoge la fase acuosa. Se extrae de nuevo la fase orgánica residual con 132 cm³ de la fase inferior de la mezcla dicloroetano-metiletilcetona-agua (1-3-1) y se recoge la fase acuosa.

10 Se reúnen las fases acuosas, se lavan con la fase superior de la mezcla dicloroetano-metiletilcetona-agua (1-3-1), se concentra bajo vacío, y luego se recogen con 15 500 cm³ de acetona. Después de filtrado con succión y secado bajo vacío, se obtienen finalmente 687 mg de N-miristoil-dibencozida en forma de un polvo rojo.

Análisis: C₈₆H₁₂₈N₁₈O₁₈ P Co = 1.790,3

Calculado: C% 57,70 H% 7,09 N% 14,09

20 Encontrado: 57,4 7,2 13,1

Ejemplo 4: La Co- α -/ α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)/Co- β -

-N-estearoil-adenosil-cobamida (a continuación denominada

N-estearoil-dibencozida)

25 En lo que sigue, todas las operaciones se efectúan al abrigo de la luz.

Se mezclan con agitación 1,58 g de dibencozida seca, 32 cm³ de una solución acuosa de carbonato disódico al 1,325%, 144 cm³ de agua destilada y 320 cm³ de dioxano.

30 A la solución obtenida se añaden con agitación 13,6 cm³ de una solución al 10% de cloruro de estearoil

1 en dioxano (volumen/volumen). Se agita 15 minutos, y luego se añaden de nuevo 32 cm³ de una solución acuosa de carbonato disódico al 1,325% y 13,6 cm³ de una solución al 10% de cloruro de estearoilo en dioxano (volumen/volumen).

5 Se agita durante 1 hora y 45 minutos más, se concentra bajo vacío y se obtiene la N-estearoil-dibencozida en forma de una solución impura.

Purificación:

10 Se acidifica a pH 6,3, por adición de ácido sulfúrico N, la solución impura obtenida antes, se destila hasta sequedad bajo vacío, se recoge el residuo con 158 cm³ de agua, se ajusta de nuevo el pH a 5 por adición de ácido sulfúrico 0,1 N y la fase acuosa se lava varias veces con éter.

15 Se ajusta el pH de la fase acuosa a 8,2 por adición de solución de sosa N y se extrae repetidas veces con la mezcla fenoldicloroetano (1-15). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con agua y se obtienen 161 cm³ de una fase orgánica que contiene el derivado esperado.

20 Se efectúa el retorno a la fase acuosa del derivado esperado por adición a la fase orgánica lavada de 3 volúmenes de metiletilcetona y un volumen de agua, se recoge después la fase acuosa. Se extrae de nuevo la fase orgánica residual con 97 cm³ de la fase inferior de la mezcla dicloroetano-metiletilcetona-agua (1-3-1) y se recoge la fase acuosa.

25 Se reúnen las fases acuosas, se lavan con la fase superior de la mezcla dicloroetano-metiletilcetona-agua (1-3-1), se concentra bajo vacío, y luego se recoge el residuo obtenido con 500 cm³ de acetona.

30 Después de filtrado con succión y secado, se obt

1 tienen finalmente 937,4 mg de N-estearoil-dibenzoizida en forma de un polvo rojo.

Análisis: C₉₀H₁₃₄N₁₈O₁₈ P Co = 1.846,47

Calculado: C% 58,56 H% 7,32 N% 13,66

5 Encontrado: 59,3 7,8 12,5

Ejemplo 5:

Se prepara extemporáneamente una solución inyectable que responde a la fórmula:

- 10
- N-palmitoil-dibenzoizida 10 mg
 - Disolvente estéril 2 cm³

Se prepara la solución inyectable introduciendo en el momento del empleo, el disolvente estéril sobre la N-palmitoil-dibenzoizida liofilizada y se agita.

Ejemplo 6:

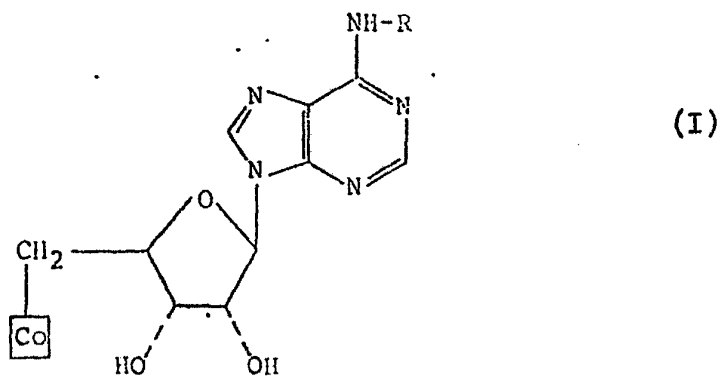
15 Se prepara extemporáneamente una solución inyectable que responde a la fórmula:

- N-estearoil-dibenzoizida 10 mg
- Disolvente estéril 2 cm³

20 Se prepara la solución inyectable introduciendo en el momento del empleo, el disolvente estéril en la N-estearoil-dibenzoizida, y luego se agita.

REIVINDICACIONES

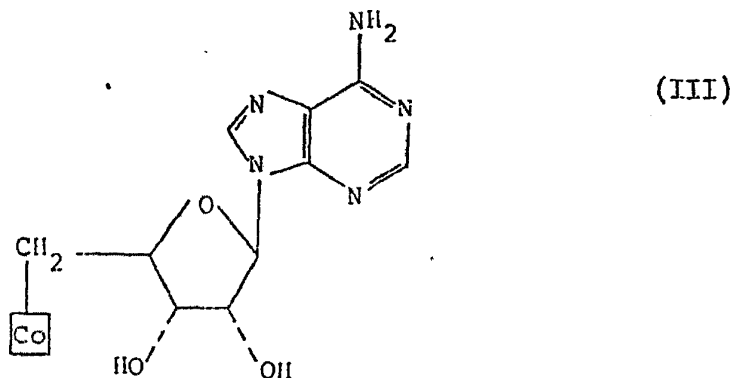
1^a.- Procedimiento de preparación de nuevos derivados de la coenzima B₁₂, de fórmula general I:



en la que R representa un radical acilo que contiene de 4 a 20 átomos de carbono y \square Co representa el grupo α -(5,6-dimetil-bencimidazolil)-cobamida, caracterizado porque se hace reaccionar, al abrigo de la luz el derivado funcional de un ácido de fórmula II:



en la que R representa un radical acilo que contiene de 4 a 20 átomos de carbono, con la dibencozida que responde a la fórmula III:



mCe

1 en la que Co tiene el significado ya indicado, en presencia de un agente alcalino, para obtener el producto de fórmula I buscado.

5 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se preparan los derivados de la coenzima B₁₂ de fórmula general I, en la que R representa un radical acilo que contiene de 14 a 18 átomos de carbono.

10 3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se prepara la Co α - / α - (5,6-dimetil-bencimidazolil) / Co β - N-palmitoil-adenosil-cobamida.

4ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se prepara la Co α - / α - (5,6-dimetil-bencimidazolil) / Co β - N-miristoil-adenosil-cobamida.

15 5ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se prepara la Co α - / α - (5,6-dimetil-bencimidazolil) / Co β - N-estearoil-adenosil-cobamida.

6ª.- Procedimiento de preparación de nuevos derivados de la coenzima B₁₂.

20 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de catorce hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 28.OCT.1977

P.A.

Oscar de Elzaburu
Por Poder.

25

m/e