

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

92 912

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 17.12.70 (P. 145063)

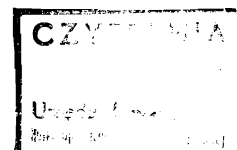
Pierwszeństwo: 25.03.70 Kanada

Zgłoszenie ogłoszono: 10.04.73

Opis patentowy opublikowano: 31.12.1977

MKP
C07c 109/02

Int. Cl.².
C07C 109/02



Twórca wynalazku: _____

Uprawniony z patentu: Merck and Co., Inc.,
Rahway (Stany Zjednoczone Ameryki)

Sposób otrzymywania pochodnych kwasu L- α -hydrazyno- β -fenylopropionowego

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania pochodnych kwasu L- α -hydrazyno- β -fenylopropionowego.

Związki otrzymywane sposobem według wynalazku są uprzednio nieznanymi, cennymi środkami leczniczymi o ogólnym wzorze przedstawionym na załączonym rysunku, w którym R¹ i R² oznaczają atom wodoru, grupę hydroksylową lub alkoksylową o 1–6 atomach węgla, fenyloksylową lub benzyloksylową, R³ i R⁴ oznaczają atom wodoru lub rodnik alkilowy o 1–6 atomach węgla, R⁵ oznacza atom wodoru, atom metalu lub rodnik alkilowy o 1–6 atomach węgla.

Racematy kwasów α -hydrazyno- β /3,4-dwuhydroksyfenilo/propionowych podstawionych w pozycji α i ich estry są znane jako silne inhibitory działania dekarboksylazy u ssaków (Sletzinger, „Journal of Medicinal Chemistry”, 6, 101 (1963) i Porter, „Biochemical Pharmacology”, 11, 1067 (1962). Takie związki znalazły zastosowanie jako środki lecznicze.

Stwierdzono, że D-izomer mieszaniny racemicznej jest nieaktywny, a nawet w pewnym stopniu przeciwdziała działaniu L-izomeru, który jest aktywnym składnikiem mieszaniny. Na podstawie pewnych testów stwierdzono, że L-izomer jest jedynym składnikiem aktywnym racematu. Inne testy wykazały, że D-izomer przeciwdziała i zmniejsza działanie L-izomeru. Celem więc wynalazku było otrzymanie czystego L-izomeru, który okazał się dużo silniejszym inhibitorem działania dekarboksylazy niż dotychczas znane związki.

Zahamowanie działania dekarboksylazy u ssaków jest ważną częścią działania fizjologicznego wielu typów farmaceutyków, co zilustrowano na przykładzie leczenia choroby Parkinsona przy użyciu L-dopa. Związek ten zużywany jest zarówno w mózgu jak i w obwodowych częściach ciała, ale pożądanym jest by był zużywany jedynie w mózgu. Hydrazynozwiązki nie przechodzą z krwią do mózgu i dlatego inhibują działanie dekarboksylazy jedynie w obwodowych częściach ciała. Tak więc, jeżeli L-dopa stosuje się wraz ze związkiem hydrazyny otrzymywanymi sposobem według wynalazku działanie dekarboksylazy na L-dopa jest inhibitowane w obwodo-

wych częściach ciała, wskutek czego więcej L-dopa może być wykorzystane w mózgu. W wyniku tego mniejsze ilości L-dopa są potrzebne do skutecznego leczenia.

Zahamowanie działania dekarboksylazy jest również ważne w leczeniu zaburzeń grubego jelita. U pewnych osób komórki jelit, i być może i inne, przejawiają nadaktywność w produkcji serotoniny z 5-hydroksytryptofanu. W wyniku takiej obfitości serotoniny następuje stałe zaczerwienienie okrężnicy i usuwanie zawartości jelit. Jeżeli tego się nie leczy, mogą nastąpić poważne schorzenia. Inhibitory działania dekarboksylazy chronią przed tworzeniem serotoniny i dlatego można je stosować przy leczeniu biegunki. Szczególnie korzystne są inhibitory działania dekarboksylazy takiej jak hydrazynozwiązki otrzymywane sposobem według wynalazku, a zwłaszcza te, które nie są aktywne fizjologicznie w innych kierunkach.

Związki otrzymywane sposobem według wynalazku hamują nie tylko działanie dekarboksylazy dwuoksyfenyloaminy, lecz również dekarboksylazy histydyny. Tak więc można je również używać jako środki przeciwhistaminowe.

Jak już wspomniano, związki otrzymywane sposobem według wynalazku odpowiadają wzorowi podanemu na rysunku. Szczególnie korzystne są takie kwasy propionowe, w których w pozycji znajduje się atom wodoru, rodnik metylowy lub etylowy. Kwas L- α -hydrazyno- α -wodoro- lub alkilo- β -3,4-dwuhydroksyfenilo/-propionowy jest aktywny przy stosowaniu go u ssaków w ilościach od 0,05 do 100 mg/kg/dzień.

Omawiane związki można stosować również w postaci dopuszczalnych w lecznictwie soli, takich jak sole metali alkalicznych i sole amonowe grup karboksylowych lub chlorowodorki, bromowodorki, siaraczany itp. grup aminowych. Korzystnie jest jednak stosować wolne aminokwasy zamiast ich soli. Aktywność biologiczną związków badano według opisanych poniżej testów.

W teście stosowano białe myszki płci żeńskiej ważące 18–22 g. Zwierzętom doustnie podawano L-dopa (L-3,4-dwuhydroksyfenyloalaninę), w ilości 80 mg/kg w połączeniu z wyżej podanymi dawkami kwasu L- α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenilo/ propionowego w postaci roztworu lub zawiesiny wodnej. Po 90 minutach zwierzętom odcinano głowy, usuwano mózgi i zbierano w grupach po 7 sztuk. Trzyoddzielne grupy traktowano w różny sposób lekami i otrzymane wartości uśredniano.

Mózgi homogenizowano 0,4 n kwasem nadchlorowym w ilości 9 ml/g tkanki. Katecholoaminy i katecholoaminokwasy adsorbowano na tlenku glinu a następnie eluowano.

Dopa i dopaminę rozdzielono chromatograficznie, stosując kolumnę zawierającą żywicę jonowymienną typu Amberlite CG-50 o rozmiarach 200–400 mesh. Następnie dopa i dopaminę utleniało jodem w celu fluorometrycznego oznaczenia zawartości dopa i dopaminy zgodnie ze sposobem opisanym w A.J.Pharmac.Exp.Therap. 150, 17 (1965) (Porter, Totaro i Bercin).

Uzyskane średnie wyniki z 3 prób podano w tablicy I.

Tablica I

	Dwaka mg/kg	Dopa Mikrogramy/g	Dopamina Mikrogramy/g
Próba kontrolna	—	0,05	1,30
Racemat	20	3,60	3,05
L-izomer	10	2,85	2,68

Z wyników podanych w tablicy widać, że w omawianym przypadku 10 mg L-związku ma tę samą aktywność, co 20 mg DL-związku (racematu). Inaczej mówiąc, w niniejszym teście L-izomer jest zasadniczo 2 razy bardziej aktywny niż racemat. Porównanie zdolności racematu, D i L izomerów kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenilo/propionowego wzmacniania działania L-dopy stosowanej przy wywołanym rezerpiną zaniku ruchu oraz opadaniu powieki (ptosis).

Myszy umieszczono w przezroczystych, plastikowych pudełkach i aklimatyzowano je w ciągu nocy. Zwierzętom podawano doustnie dawki racematu, L lub D izomerów kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenilo/propionowego w metocelu (środek dyspergujący — 1% roztwór wodny metylocelulozy) 1 godzinę po dootrzewnym wprowadzeniu rezerpiny w ilości 4 mg/kg. W 2 godziny po podaniu rezerpiny podawano zwierzętom dootrzewnowo L-dopa w ilości 150 mg/kg i w godzinę później myszy obserwowano pod kątem zanikania ruchliwości i występowania p-tosis.

Zanikanie ruchliwości oznaczano umieszczając myszy oddzielnie na środku siatki drucianej o rozmiarach 20 × 50 cm na okres 15 sekund. Jeżeli mysz nie przespacerowała do brzegów siatki (zwykle mniej niż 15% myszy

potraktowanych rezerpiną osiąga brzeg siatki), uznawano, że ruch zanikł. Myszy nie traktowane rezerpiną spacerowały po siatce lub schodziły z niej w ciągu tego okresu czasu. Ptośis uznawano za istniejącą jeżeli powieki opadły o 50% lub więcej.

T a b l i c a I I

Porównanie wpływu D i L izomeru kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego na przeciwdziałanie L-dopa porezerpinowemu zanikaniu ruchu i ptośis

Wstępne traktowanie myszy ^{a)}	Dawka mg/kg	Porezerpinowy zanik ruchu. Stosunek liczby myszy ochronionych do liczby myszy badanych	Porezerpinowe występowanie ptośis. Stosunek liczby myszy ochronionych do liczby myszy badanych
Metocel	—	1/10	1/10
D-izomer	5,0	1/10	1/10
+ metocel	25,0	2/10	2/10
	125,0	2/10	3/10
L-izomer	0,2	3/10	2/10
+ metocel	1,0	5/10	7/10
	5,0 ^{b)}	8/10	9/10
	ED ₅₀ ^{c)}	0,86 mg/kg	0,56 mg/kg

a) 1 godzinę przed podaniem L-dopa w ilości 150 mg/kg

b) Za dawka kwasu L- α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego nie przeciwdziałała skutkom wywołanym przez podanie rezerpiny, o ile była podana przed podaniem metocelu.

c) ED₅₀ oznacza niezbędną dawkę kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego która w połączeniu z L-dopa podawaną w ilości 150 mg/kg przeciwdziałała skutkom wywołanym przez podanie rezerpiny u 50% myszy.

T a b l i c a I I I

Porównanie wpływu racematu i L-izomeru kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego na przeciwdziałanie L-dopa (150 mg/kg) porezerpinowemu zanikowi ruchu i ptośis

Wstępne traktowanie myszy ^{a)}	Dawka mg/kg	Porezerpinowy zanik ruchu. Stosunek liczby myszy ochronionych do liczby myszy badanych	Porezerpinowe występowanie ptośis. Stosunek liczby myszy ochronionych do liczby myszy badanych
Metocel	—	7/70	8/70
L-izomer	0,07	4/30	5/30
+ metocel	0,22	10/70	16/70
	0,67	20/70	23/70
	2,0	45/70	44/70
	6,0	33/40	34/40
	ED ^{b)}	1,2 mg/kg (0,5–2,9)	1,0 mg/kg (0,5–1,8)
Racemat	0,67	11/70	10/70
+ metocel	2,0	29/70	30/70
	6,0	49/70	50/70
	18,0	63/70	62/70
	ED ₅₀ ^{b)}	2,9 mg/kg (2,4–3,5)	2,8 mg/kg (2,2–3,8)

- a) 1 godzinę przed podaniem L-dopa w ilości 150 mg/kg
- b) ED_{50} oznacza niezbędną dawkę kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego, która w połączeniu z L-dopa w ilości 150 mg/kg przeciwdziała skutkom wywołanym przez podanie rezerpiny u 50% myszy. Wartości w nawiasach odnoszą się do przedziału ufności 95%.

W tablicy II i III zebrano wyniki dotyczące wpływu dootrzewnego podawania L-dopy w ilości 150 mg/kg traktowaniu rezerpiną wywołującą zanik ruchu i ptosis u myszy potraktowanych uprzednio dawkami racematu, D i L izomerów kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego. Ta dawka L-dopy (150 mg/kg) nie przeciwdziałała rezerpinie u myszy potraktowanych uprzednio metocalem. Dawki racematu, D i L izomerów kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego, które są niezbędne do przeciwdziałania zanikowi ruchu i ptosis spowodowanemu rezerpiną (u 50% myszy – ED_{50}), podawane w połączeniu z L-dopą (150 mg/kg), obliczone z równania regresji otrzymanego z danych doświadczalnych.

Izomer D kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego wykazywał niewielką albo żadną zdolność wzmacniania efektów działania L-dopa na myszy potraktowane rezerpiną ($ED_{50} > 125,0$ mg/kg). Z porównania wskaźników ED_{50} uzyskanych w przypadku stosowania racematu i L-izomeru kwasu α -hydrazyno- α -metylo- β -3,4-dwuhydroksyfenylo/propionowego wynika, że L-izomer ($ED_{50} = 1,2$ mg/kg) jest około 2,4 razy bardziej aktywny od racematu ($ED_{50} = 2,9$ mg/kg) przy wzmacnianiu działania L-dopa likwidującego porezerpinowy zanik ruchu. W odniesieniu do przeciwdziałania ptosis spowodowanej rezerpiną, L-izomer ($ED_{50} = 1,0$ mg/kg) jest około 2,8 razy aktywniejszy od racematu ($ED_{50} = 2,9$ mg/kg).

Sposobem według wynalazku L pochodne kwasu α -hydrazyno- β -fenylopropionowego otrzymuje się przez poddanie racematu lub innej mieszaniny izomerów D i L pochodnych kwasu α -hydrazyno- β -fenylopropionowego rozdzielaniu, na drodze frakcjonowania krystalizacji.

Rozdzielanie prowadzi się bezpośrednio w postaci kwasu α -hydrazynopropionowego lub jego pochodnej acetylowej, formylowej, trójfluoroacetylowej lub benzoilowej. W tym przypadku można prowadzić frakcjonowaną krystalizację w sposób ciągły.

Przygotowuje się nasycony roztwór mieszaniny racemicznej w temperaturze 60–100°C w rozpuszczalniku zawierającym taką ilość kwasu tworzącego sól, żeby 0–20% mieszaniny racemicznej znajdowało się w postaci soli. Nasycony roztwór sący się, przesącza zaszczepia się potrzebną odmianą enancjomorficzną i oziębia się do temperatury 5–40°C. Jeżeli frakcjonowaną krystalizację prowadzi się w sposób ciągły do rozpuszczenia mieszaniny racemicznej można stosować roztwór macierzysty.

Oddzielony stereoizomer hydrolizuje się, korzystnie w wodnym roztworze kwasu lub zasady w umiarkowanych warunkach, w celu usunięcia grup acylowych. Jeżeli związek zawiera inne podstawniki, takie jak np. grupy metoksyłowe w położeniu 3 i 4 lub benzoksyłowe w położeniu 3 i 4 można je hydrolizować równocześnie uzyskując wolne grupy hydroksylowe, co jednak wymaga bardziej ostrych warunków hydrolizy. Hydrolizę korzystnie prowadzi się w temperaturze od 75 do 165°C. W razie potrzeby równoczesnej hydrolizy grup metoksyłowych lub benzoksyłowych w pozycji 3 i 4 związek hydrolizuje się stężonymi kwasami chlorowcowodorowymi w temperaturze od 100 do 165°C. W przypadku nieobecności takich podstawników hydrolizę prowadzi się w mniej ostrych warunkach.

Poniżej podano przykłady ilustrujące sposób według wynalazku.

P r z y k ł a d I. 45 g kwasu D,L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego rozpuszcza się w 115 ml 1n roztworu kwasu solnego w temperaturze 45°C. Otrzymaną mieszaninę sący się i nasycony roztwór zaszczepia w temperaturze 45°C 5 g kwasu L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego. Próbkę kwasu L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego do zaszczepiania roztworu można otrzymać np. na drodze rozdziału racematu za pomocą acylowania środkiem optycznie czynnym, rozdzielania utworzonych diastereoizomerów i następną hydrolizę. Zaszczepiony nasycony roztwór oziębia się do temperatury 25°C w ciągu 35 minut i pozostawia na 1 godzinę w tej temperaturze. Wydzielony osad oddziela się odsączając go, następnie przemywa się go 2 porcjami po 15 ml wody o temperaturze 25°C i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując kwas L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowy topniejący z rozkładem w temperaturze 208°C.

Roztwór macierzysty z poprzedniego etapu łączy się z 5 g kwasu D,L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego, ogrzewa się do temperatury 45°C i sący. Następnie nasycony roztwór traktuje się 4 g kwasu D- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego i oziębia się do temperatury 25°C w ciągu 30 minut. Wytrącony osad oddziela się w sposób opisany powyżej.

Roztwór macierzysty z ostatniego etapu zwraca się z 5 g kwasu D,L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego i postępując w sposób opisany w etapie pierwszym niniejszego przykładu, otrzymuje się kwas L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowy.

Przykład II. Naczynie A napełnia się 195 ml 0,1n kwasu chlorowodorowego i 19 g kwasu D,L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego. Otrzymaną mieszaninę ogrzewa się do temperatury 45°C na łaźni wodnej i utrzymuje się ją przez cały czas trwania operacji. Przewód z naczynia A przechodzi przez filtr, a następnie dzieli się na 2 części prowadzące do naczyń B i C. Naczynia B i C są napełnione 12 g kwasu D,L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego rozpuszczonego w 230 ml 0,1 n kwasu chlorowodorowego w temperaturze 25°C. Roztwór sączy się w celu pozbycia się zawieszonych cząsteczek i 115 ml tego roztworu wlewa się do naczynia B, a resztę do naczynia C. Naczynia B i C utrzymuje się w trakcie operacji w temperaturze 25°C. Do naczynia B dodaje się 1,35 g kwasu L- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego, a do naczynia C dodaje się 1,35 g kwasu D- α -3,4-dwuhydroksybenzylo/- α -hydrazynopropionowego.

Roztwór z naczynia A przepompowuje się do naczyń B i C z szybkością 2 ml/minutę, aby naczynia te napełniały się z szybkością 1 ml/minutę. Nadmiar cieczy z naczyń B i C zwraca się do naczynia A odpowiednimi przewodami.

W regularnych odstępach czasu dodaje się do naczynia A mieszaninę racemiczną DL, aby utrzymać roztwór w stanie nasycenia. Izomery D i L usuwa się w regularnych odstępach czasu, a kiedy to potrzebne, dodaje się dodatkowe zarodki kryształów. W ten sposób realizuje się ciągłe rozdzielanie mieszaniny racemicznej na izomery D i L.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania pochodnych kwasu L- α -hydrazyno- β -fenylopropionowego o wzorze przedstawionym na załączonym rysunku, w którym R^1 i R^2 oznaczają atom wodoru, grupę hydroksylową, grupę alkoksylową o 1–6 atomach węgla, grupę fenoksylową lub grupę benzyloksylową, R^3 i R^4 oznaczają atom wodoru lub grupę alkilową o 1–6 atomach węgla, R^5 oznacza atom wodoru, atom metalu lub grupę alkilową o 1–6 atomach węgla, z n a m i e n n y t y m, że przygotowuje się nasycony roztwór racematu lub innej mieszaniny izomerów D i L pochodnych kwasu α -hydrazyno- β -fenylopropionowego o wzorze przedstawionym na rysunku, w którym R^1 , R^2 , R^3 , R^4 i R^5 mają wyżej podane znaczenie w rozpuszczalniku zawierającym kwas tworzący sól, który wprowadza się w takiej ilości, żeby 0–20% mieszaniny racemicznej lub innej rozpuszczalnej mieszaniny znajdowało się w postaci soli, o temperaturze 60–100°C, po czym roztwór sączy się, przesącza się żądanym enancjomerem, oziębia do temperatury 5–40°C i poddaje frakcjonowanej krystalizacji, korzystnie w sposób ciągły, przy czym oddzielany izomer otrzymuje się bezpośrednio w postaci kwasu α -hydrazynopropionowego lub w postaci jego pochodnej acetylowej, formylowej, trójfluoroacetylowej lub benzoilowej, w których następnie hydrolizuje się grupy acetylową, trójfluoroacetylową lub benzoilową.

