

**Patent number: RE35631 - Filing date: Jun 2, 1994 - Issue date: Oct 14, 1997**

## **METODO DI PRODUZIONE DI MELATONINA SOSTANZA PURA E IL METODO DI SOLUBILIZZARE MELATONINA IN ACQUA.**

Franco Fraschini, Luigi Di Bella, entrambi di Milano, Ermanno Duranti di Milano, deceduto, Maria Teresa Moni Duranti legale rappresentante di Urbino, Andrea Duranti legale rappresentante di Urbino, Lucia Duranti legale rappresentante di Urbino, tutti italiani.

### **ESTRATTO**

Un metodo per sintetizzare un derivato indolico del tipo triptamina, in particolare melatonina, comprendente le fasi 1) reazione del potassio ftalimide e 1,3-di-bromopropano per ottenere 3-bromoprofilftalimide; 2) reazione del 3-bromoprofilftalimide con sodio estere acetoacetico in etanolo per ottenere etil-2-acetil-5-ftalimidopentanoato; 3) reazione del prodotto dalla fase 2 con diazo-p-anisidina per ottenere 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo; 4) reazione del 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo con NaOH 2N e poi con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% per ottenere una impura 5-metossitriptamina, che viene purificata mediante ametildisilazano esagonale. Sono ottenuti i derivati mono e disostituito e il derivato monosostituito è idrolisato con metanolo acquoso e quindi ricristallizzato dall'etanolo. Il derivato N-acetil è ottenuto per reazione con anidride acetica. Melatonina di purezza elevata viene usata per profilassi terapeutica e anche contro l'AIDS (Sindrome di Immuno Deficienza Acquisita).

Antefatto dell'invenzione.

La presente invenzione riguarda un metodo di sintesi totale per preparare un prodotto derivato dalla struttura dell'indolo classe tipo triptamina in particolare tipo melatonina o N-acetil-5-metossitriptamina avente un elevato grado di purezza e facilmente solubile per uso terapeutico contro Sindromi da Immuno Deficienza Acquisita o sindromi cosiddetti AIDS.

Come è noto si è trovato che la melatonina (MTL) somministrata in dosi adatte e in tempi giusti è in grado di ridurre la sintesi proteica di ipotalamo e ipofisi e che, inoltre, può inibire la sintesi di gonadostimoline.

Tale azione è probabilmente esercitata mediante una modulazione di trascrizione e repressione genica nonché sulla increzione dei due fattori di crescita GH e PRL in condizioni particolari.

Gli effetti generali sopra citati che sono associati con altre azioni particolari, come descritto in modo più dettagliato in seguito, possono giustificare come utile, anche se non indispensabile, l'uso della melatonina contro i tumori.

In effetti si può ragionevolmente pensare che la melatonina appartenga a quella classe di farmaci che interferiscono con la crescita delle cellule neoplastiche e riducono il tempo di vita dello stesso. D'altra parte, è anche noto il fatto che i metodi attualmente disponibili per rendere la struttura della triptamina con l'atomo di idrogeno in posizione -5 sostituito dal gruppo O-CH<sub>3</sub>, si basano su una serie di reazioni chimiche fornenti 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo, mediante i quali si ottiene 5-metossitriptamina con una pluralità di passaggi relativamente complessi e a basso rendimento di trasformazione.

Più specificamente, metodi di tecnica già noti comprendono un passo di saponificazione alcalina fornendo 2-carbossi-3-(2-O-5-carbossibenzamidoetile)-5-metossi-indolo acido che viene quindi decarbossilato a secco a 250°C, allo scopo di formare ftalimidoetile-5-metossi-indolo, che è poi l'acqua idrazinolitata per ottenere 5-metossitriptamina.

Sommario dell'invenzione.

Pertanto, lo scopo principale della presente invenzione è superare l'inconveniente della purificazione prevedendo la realizzazione, con rese molto elevate di produzione, di 5-

metossitriptamina, il cui metodo comprende essenzialmente una sintesi già nota rispetto ai reagenti, ma effettuata con tecniche nuove a partire da 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo. Un altro scopo dell'invenzione è quello di realizzare un procedimento che, oltre a semplificare il trattamento, sia in grado di fornire la melatonina a partire dalla 5-metossitriptamina in forma grezza come dalla 5-metossitriptamina in forma pura.

Ancora un altro scopo della presente invenzione è di ottenere un metodo di sintesi totale che fornisca un prodotto molto puro e affidabile, con proprietà curative costanti.

Metodo di solubilizzazione della melatonina in acqua.

1) Per un migliore utilizzo della melatonina, la presente invenzione suggerisce di solubilizzarla in acqua, per facilitare le applicazioni terapeutiche, con un metodo particolare. Infatti come è noto la melatonina è scarsamente solubile in acqua, con solubilità soddisfacente solo a 40-45°C.

Dopo lunga sperimentazione, si è trovato l'adenosina adatta a dissolvere facilmente in acqua la melatonina. In particolare, un rapporto ottimale è stata trovata come segue: per una mole di melatonina (252,27 g) devono essere utilizzate quattro moli di adenosina (267,26 g).

2) Un metodo di preparazione di melatonina avente un elevato grado di purezza consiste nei seguenti passi:

- a) reazione della ftalimide di potassio con dibromopropano cui si ottiene 3-bromopropilftalimide;
- b) reazione della 3-bromopropilftalimide dal passaggio con uno estere acetoacetico in presenza di etossido di sodio si ottiene etil-2-acetil ftalimido-pentanoato;
- c) reazione della etil 2-acetil ftalimido-pentanoato con il sale di diazonio della p-anisidina da cui si ottiene 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo;
- d) reazione della 2-carbossietil-3-(2-ftalimidoetile)-5-metossi-indolo con idrossido di sodio e poi con acido solforico da cui si ottiene 5-metossitriptamina grezza;
- e) reazione della 5-metossitriptamina grezza con esametil disilazane per ottenere una miscela di prodotti mono e disostituiti e idrolizzando detta miscela con metanolo acquoso per ottenere essenzialmente 5-metossitriptamina pura;
- f) reazione della 5-metossitriptamina pura con anidride acetica per ottenere melatonina grezza e purificare detta melatonina grezza mediante cromatografia su gel di silice e una prima separazione con cloruro di metilene seguita da separazione con cloruro di metilene e acetone, ottenendo una soluzione, concentrando detta soluzione di cloruro di metilene e acetone, si ottiene un solido, ricristallizzando detto solido purificato si ottiene melatonina.

3) Il metodo secondo la detta fase d viene eseguita da riflusso a 135°C per 2 ore e mezza fino a soluzione completa, aggiungendo poi un 20% (v/v) di soluzione H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed ulteriore riflusso per quattro ore.

4) Dopo riflusso con detto acido solforico 20%, la soluzione viene raffreddata fino a far precipitare l'acido ftalico e filtrata per l'eliminazione di detto acido ftalico.

5) Dopo filtraggio dell'acido ftalico, è aggiunto idrossido di sodio e la 5-metossitriptamina grezza viene estratta con dicloruro di metilene.

6) Dopo riflusso per 12/14 ore la 5-metossitriptamina grezza è trattata con esametil-disilazano, per ottenere prodotti di sostituzione mono e di silyl, distillare quindi la soluzione sotto pressione normale in modo da recuperare eccesso di esametil-disilazano e idrolizzare i prodotti di sostituzione del silyl con metanolo acquoso allo scopo di ottenere 5-metossitriptamina essenzialmente pura.