

354884

Memoria descriptiva



4. OCT. 1974

Int. Cl.<sup>4</sup> C07D 407/12 // A61K 31/35

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de DR. KARL THOMAE GESELLSCHAFT MIT BESCHRANKTER  
HAFTUNG,

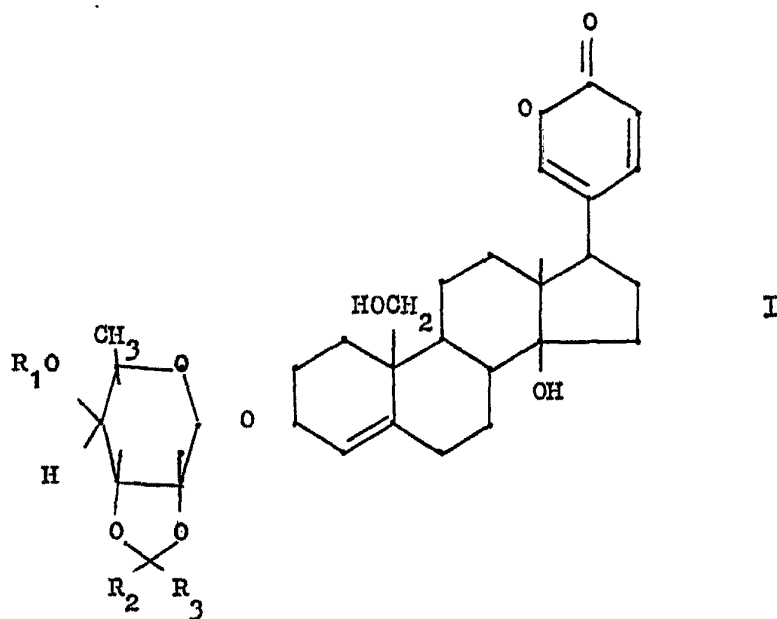
entidad / ~~de personalidad~~ alemana,

con domicilio en Biberach an der Riss, República Federal Ale-  
mana,

por: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS  
DE BUFADIENOLIDA-GLICOSIDOS" (Clase Internacional C07d - -  
A61k). -



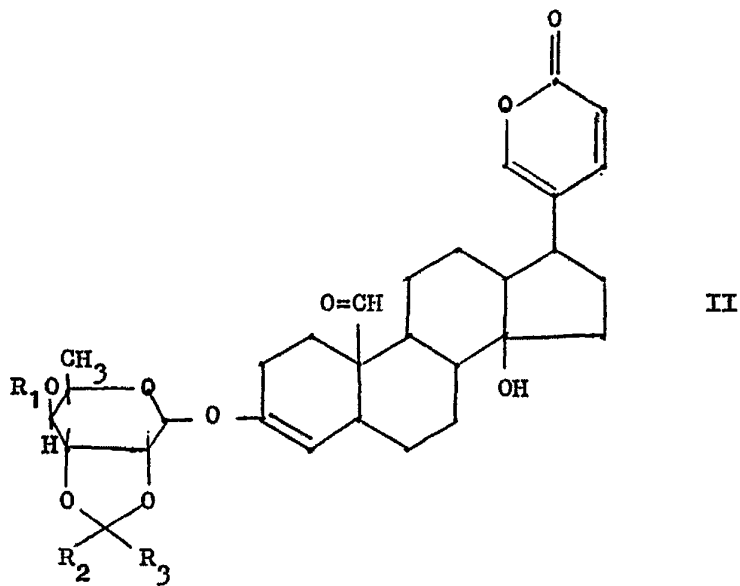
El invento concierne a un procedimiento para la preparación de nuevos derivados de bufadienolida glicósidos de la fórmula general



En esta fórmula,  $R_1$  significa un átomo de hidrógeno o el radical acetilo,  $R_2$  y  $R_3$ , que pueden ser iguales o distintos, significan átomos de hidrógeno, radicales alcohilo eventualmente sustituidos por halógeno o, juntamente con el átomo de carbono vecino, significan un anillo alicíclico de 5 a 7 miembros.

Los nuevos compuestos pueden ser preparados de acuerdo con el invento, según el siguiente procedimiento.

Reducción de un compuesto de la fórmula



en la que  $R_1$  a  $R_3$  muestran los significados indicados, -  
por medio de un hidruro metálico complejo, por ejemplo -  
por medio de hidruro de litio y tri-ter-butoxialuminio.

La reducción se verifica preferiblemente a temperaturas -  
5 entre 0 y 25°C en un disolvente inerte, por ejemplo en te  
trahidrofurano, éter o dioxano.

Los compuestos de la fórmula I obtenidos, en --  
los que  $R_1$  significa un átomo de hidrógeno, pueden ser --  
acetilados en caso deseado, posteriormente según métodos  
10 usuales. La acetilación se realiza con un derivado del --  
ácido acético susceptible de reaccionar, por ejemplo con  
cloruro de acetilo, con anhídrido acético o con un anhídri  
do mixto del ácido acético con un monoéster de ácido carbó  
nico, a la temperatura ambiente o a temperatura moderada-  
15 mente elevada en un disolvente inerte en presencia de un -  
agente que fija ácidos. En calidad de tal agente se pue--  
den utilizar bases inorgánicas u orgánicas terciarias; las  
últimas, por ejemplo la piridina, pueden servir simultánea-  
mente como disolvente en un exceso apropiado.



La preparación de los compuestos de la fórmula II utilizados como materiales de partida se describe en la solicitud de patente española número 348.541 del 23 de diciembre de 1967.

5 Los nuevos cardioglicósidos preparados de acuerdo con el invento poseen valiosas propiedades farmacológicas; especialmente, muestran una acción inótropa positiva en la aurícula aislada del cobaya así como en un preparado de corazón y pulmón, que supera a la de la g-estrofantina, siendo menor su toxicidad que la de la g-estrofantina. Estas propiedades son poseídas tanto por los compuestos de la fórmula I en los que  $R_1$  significa un átomo de hidrógeno, como también por los correspondientes compuestos acetilados.

15 Las propiedades farmacológicas de las siguientes sustancias A = 3beta-(2',3'-O-isopropiliden-4'-acetil)-alfa-L-rannósido-14beta,19-dihidroxi-bufa-4,20,22-trienolida y B = 3beta-(2',3'-O-isopropiliden)-alfa-L-rannósido-14beta,19-dihidroxi-bufa-4,20,22-trienolida, fueron investigadas con más detalle en comparación con C = g-estrofantina.

20 1) Determinación de la acción inótropa positiva en la aurícula aislada del cobaya dañada por deficiencia de  $Ca^{++}$

25 Aurículas aisladas de cobaya laten espontáneamente hasta el equilibrado en solución normal de tirode a 30°C. Por sustitución de la solución de tirode por una solución cuyo contenido de  $Ca^{++}$  ha sido reducido a 1/3, causa una insuficiencia por déficit de  $Ca^{++}$ , en la que la amplitud de latido registrada isotónicamente después de 20



minutos disminuye hasta aproximadamente 20% del valor de partida. Si en este momento se añade un cardioglicósido, se puede observar una clara acción inótropa positiva, cuya magnitud es medida 30 minutos después de la aplicación de la sustancia. A partir de curvas de dosis y de acción se determina la concentración de glicósido que produce un aumento de la amplitud del latido de 100% (DE<sub>100</sub>). La siguiente tabla reproduce los valores obtenidos:

10

Sustancia	DE <sub>100</sub> en g/ml
A	$3,65 \times 10^{-8}$
C	$4,3 \times 10^{-8}$

La tabla muestra que el compuesto de acuerdo con el invento es más activo que el compuesto C conocido.

15

## 2) Determinación de la dosis letal intravenosa en cobayas

De acuerdo con el método de Krafft y Lenz (Arch. exp. Path.-Pharmak, 135, 259 (1928)), se determinó la dosis letal intravenosa (DL<sub>100</sub>) por infusión continua en cobayas. La siguiente tabla reproduce los valores obtenidos.

20

Sustancia	Número de animales	Duración de la infusión, minutos	DL <sub>100</sub> %/kg intravenoso $\pm$ S $\frac{-}{x}$
A	7	28,2	$262,92 \pm 22,79$
C	8	24,4	$212,5 \pm 23,6$

18.7.68



3) Determinación de la dosis letal intravenosa en gatos

Según el método de Hatcher, se determinó la dosis letal por infusión continua intravenosa a gatos. La siguiente tabla reproduce los valores obtenidos:

5	Sustancia	Número de animales	Duración de la infusión, minutos	DL <sub>100</sub> $\bar{y}$ /kg intravenoso $\pm$ S $\bar{x}$
	A	6	61,7	556,4 $\pm$ 15,4
	C	11	61,6	115,5 $\pm$ 6,4

10 4) Determinación del grado de resorción oral en ratas

De acuerdo con el método de Greef (Arch. exp. Path.-Pharmakol, 233, 468) se determinó el grado de resorción oral de las sustancias A, B y C en ratas.

15 La aplicación intravenosa y oral de la sustancia conduce a una eliminación elevada de K en la orina. A base de la relación lineal entre el logaritmo de la dosis de las sustancias y la eliminación de K<sup>+</sup> en ambos tipos de administración, se calculó la proporción relativa de intravenosa a per-oral; el porcentaje de la cantidad de sustancia que entra en acción oralmente en las diversas sustancias es de:

25	Sustancia	Número de animales	Resorción oral en %
	A	9	55 - 70
	B	12	25
	C	12	< 10



Estos resultados muestran que los compuestos preparados de acuerdo con el invento muestran un grado de resorción oral muy favorable, y esto es una gran ventaja en cardiológicos.

5 Los siguientes ejemplos deben explicar el invento con más detalle.

Ejemplo 1: 3beta-(2',3'-O-isopropiliden-4'-acetil)-alfa-L-ramnósido-14beta,19-dihidroxibufa-4,20,22-trienolida.

10 Una solución de 2 g de 3beta-(2',3'-O-isopropiliden-4'-acetil) alfa-L-ramnósido-14beta-hidroxi-19-oxo-bufa-4,20,22-trienolida en 50 ml de tetrahidrofurano -- (anhidro) es reunida con una solución de 4 g de hidruro de litio y tri-ter-butoxi-aluminio en 50 ml de tetrahi-  
15 drofurano y es dejado reposar durante 3 horas a 0°C. El transcurso de la reacción es controlado por cromatografía en capa delgada. Después de neutralizar con ácido -- acético al 5%, se extrae por agitación con cloroformo y el extracto es lavado con solución saturada de bicarbonato de sodio y con agua, es secado con sulfato de sodio y  
20 es concentrado en vacío hasta sequedad. El producto crudo es purificado sobre una columna de gel de sílice (0,2 a 0,5 mm) con cloroformo, al que se añaden cantidades -- crecientes de acetona. P. de f. 140-142°C. Rendimiento: 1,53 g = 74,5 % de la teoría.

25 Ejemplo 2: 3beta-(2',3'-O-metil-etiliden)-alfa-L-ramnósido-14beta,19-dihidroxi-bufa-4,20,22-trienolida.

Una solución de 80 mg de 3beta-(2',3'-O-metil-propiliden)-alfa-L-ramnósido-14-beta-hidroxi-19-oxo-bufa-4,20,22-trienolida en 5 ml de tetrahidrofurano es reuni-



da con una solución de 160 mg de hidruro de litio y tri-  
ter-butoxi-aluminio en 5 ml de tetrahidrofurano y es de-  
jada reposar durante 2,5 horas a 0°C. El tratamiento se  
realiza análogamente al Ejemplo 1, y el producto de reac-  
5 ción es recristalizado a partir de etanol y agua. Rendi-  
miento: 60 mg = 74,5% de la teoría. P. de f. 150-152°C.

Ejemplo 3: 3beta-(2',3'-O-isopropiliden)-alfa-L-ramnósido-14beta,19-dihidroxi-bufa-4,20,22-trienolida.

500 mg de 3beta-(2',3'-O-isopropiliden)-alfa-L-  
10 -ramnósido-14beta-hidroxi-19-oxo-bufa-4,20,22 trienolida,  
disueltos en 25 ml de tetrahidrofurano, y 1 g de hidruro  
de litio y tri-ter-butoxi-aluminio disueltos en 25 ml de  
tetrahidrofurano, son reunidos y dejados reposar durante  
2,5 horas a 0°C. El tratamiento se realiza tal como se in-  
15 dica en el Ejemplo 1, el producto obtenido es recristali-  
zado a partir de acetona y éter. Rendimiento: 300 mg = 60%  
de la teoría. P. de f. = 168 - 171°C, con descomposición.

Ejemplo 4: 3beta-(2',3'-O-isopropiliden-4'-acetil)-alfa-L-ramnósido-14beta,19-dihidroxi-bufa-4,20,22-trienolida.

200 mg de beta-(2',3'-O-isopropiliden)-alfa-L-  
20 -ramnósido, 14beta,19-dihidroxi-bufa-4,20,22-trienolida,  
disuelta en 0,1 ml de piridina y 0,03 ml de anhídrido acé-  
tico son reunidos y dejados reposar durante 48 horas a -  
0°C. Después de concentrar hasta sequedad la solución de  
25 reacción, el residuo es recogido en cloroformo. La cromatografía en capa delgada muestra partes aproximadamente iguales de producto de reacción y de producto de partida. La separación se realiza sobre una columna de gel de sílice (0,2 - 0,5 mm) con mezclas de cloruro de metileno y me-



tanol. Se obtienen 65,1 mg = 30,1% de la teoría, del compuesto deseado de p. de f. = 140 - 141°C.

5 El punto de fusión mixto y la cromatografía en capa delgada mixta con el compuesto obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1, demuestran que ambas sustancias son -- idénticas.

Ejemplo 5: 3beta-(2',3'-ciclohexiliden)-alfa-1-ramnósido-14beta, 19-dihidroxi-bufa-4,20,22-trienolida.

10 Se disuelven 200 mg de 3beta-(2',3'-ciclohexiliden)-alfa-1-ramnósido-14beta-hidroxi-19-oxo-bufa-4,20,22-trienolida en 40 ml de tetrahidrofurano y se añaden - 400 mg de hidruro de litio y tri-ter-butoxi-aluminio. Después de un tiempo de reacción de 3 horas a temperatura ambiente se trata el producto resultante como se ha descrito en el ejemplo 1 y se purifica a través de una columna de gel de sílice (0,2 - 0,5 mm) con cloroformo y acetona en la proporción de 1:1.

Temperatura de solidificación: 100 - 105°C.

Rendimiento: 100 mg (50% de la teoría).

20 Esta solicitud, que corresponde a la presentada en la República Federal Alemana, con fecha 13 de Junio de 1967, bajo el número T 34.084 IVb/120, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

25

N O T A

Los puntos de invención, propia y nueva, que se

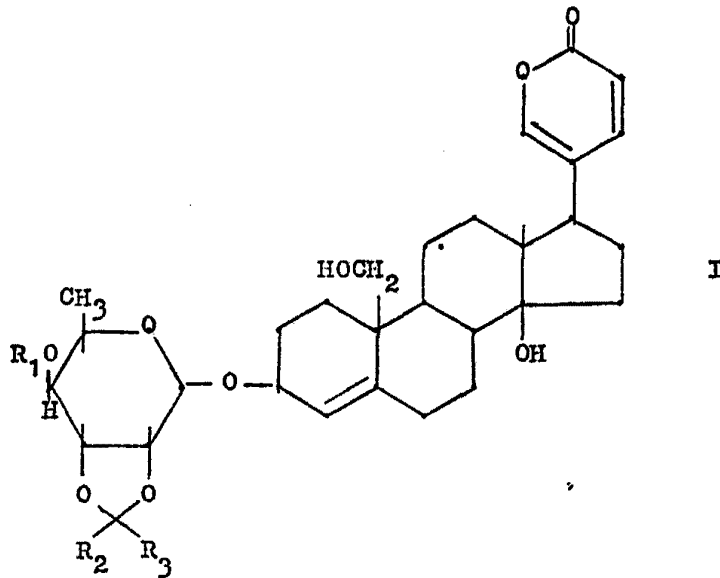
19.7.68

- 9 -

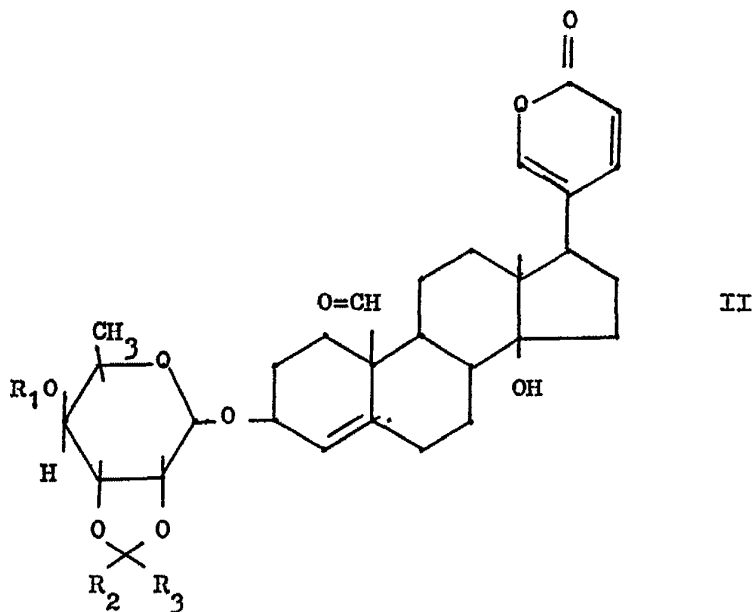


presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

1º. - Procedimiento para la preparación de nuevos derivados de bufadienolida-glicósidos de la fórmula general



en la que  $R_1$  significa hidrógeno o el radical acetilo y  $R_2$  y  $R_3$ , que pueden ser iguales o distintos, significan átomos de hidrógeno, radicales alcohilo eventualmente sustituidos por halógeno o, conjuntamente con el átomo de carbono vecino, significan un anillo alicíclico de 5 a 7 miembros, caracterizado porque se reduce un compuesto de la fórmula



en la que  $R_1$  a  $R_3$  poseen los significados antes indica--  
dos, por medio de un hidruro metálico complejo, y los --  
compuestos de la fórmula I obtenidos en los que  $R_1$  signi--  
fica un hidrógeno, son acetilados, en caso deseado, pos--  
teriormente según métodos conocidos.

2º. - Procedimiento según la reivindicación 1,  
caracterizado porque la reducción se realiza por medio  
de hidruro de litio y tri-ter-butoxi-aluminio en un di--  
solvente inerte.

3º. - Procedimiento para la preparación de nue--  
vos derivados de bufadienolida-glicósidos.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que an--  
tecede y con los fines que se han especificado.

La presente Memoria consta de once hojas escri--  
tas a máquina por una sola cara.

Madrid,

4 OCT. 1968

P. A.

Alberto de Elvira  
Pat. Power