

S/Ref: A-1714

N/Ref: OG. 22.769.-MI



PATENTE DE INVENCION

400318

ANULACION
Y PROHIBICION
DE LAS COPIAS
EXTRAJERAS
DE LA PATENTE

MEMORIA DESCRIPTIVA

Sobre:

" METODO DE OBTENCION DE ESTERES FOSFORICOS ANTAGONISTAS DE LA PROSTAGLANDINA "

Solicitante: La Compañia norteamericana: ALLERGAN PHARMACEUTICALS, domiciliada en 1000 South Grand Avenue, SANTA ANA, California (U. S. A.).

Inventores: D. Kenneth Ernest Eakins,
D. Eric Loren Nelson y
D. John Raymond Smythies.

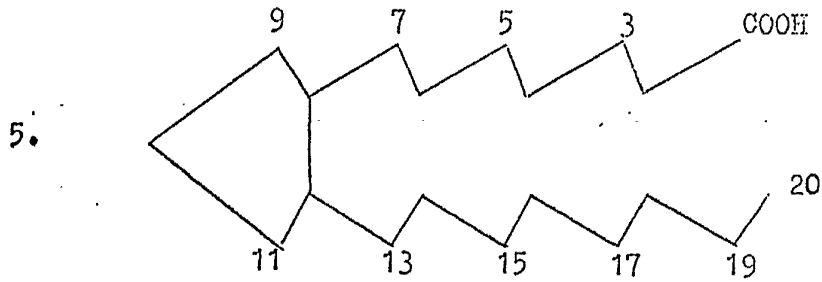


FONDO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a antagonistas (AMP cíclico) de 3', 5'-monofosfato de la prostaglandina y/o adenosina de bajo peso molecular. Más particularmente, 5. la presente invención se refiere a polímeros de bajo peso molecular de ciertos ésteres polímeros fosfóricos, a su método de síntesis y a su método de separación a partir de polímeros de peso molecular elevado.

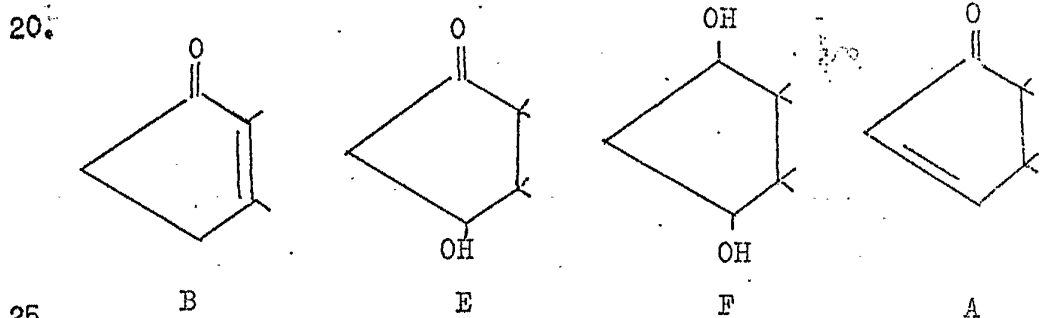
Las prostaglandinas son un grupo de ácidos carboxílicos insaturados hidroxil e hidroxiqueto de cadena -- 10. larga. Dichos ácidos se hallan ampliamente distribuidos en los tejidos humanos y animales y poseen una amplia variedad de acciones farmacológicas. Parece probable que -- las prostaglandinas tienen un papel bioquímico fundamental para muchas, quizás, todas las células animales. Se -- 15. han dedicado muchos artículos a las prostaglandinas especialmente a sus aspectos bioquímico/farmacológicos. Un reciente artículo titulado, "Hypothesis on Physiological Roles of Prostaglandins" por E. W. Horton, aparecido en -- 20. la Physiological Review, Volumen 49, Nº 1, Enero 1.969, revisa el estado actual del conocimiento sobre la importancia funcional de las prostaglandinas.

Las prostaglandinas de origen natural son ácidos grasos con 20 átomos de carbono que contiene un anillo de ciclopentano. El ácido saturado de origen ha sido denominado ácido prostanóico como se expone a continuación: 25.



10. Acido Prostanóico

15. Se ha descrito hasta ese punto cuatro series -
de prostaglandinas naturales, designadas por las letras -
B, E, F, y A correspondientes a diferencias en el anillo,
según se muestra a continuación:



30. Todas las prostaglandinas tienen un sustituyen-
te de 15-hidroxilo. El grado de insaturación de las cade-
nas laterales es indicado por el número subíndice que va
después de la letra: así la prostaglandina E₁ tiene un
doble enlace trans en la posición 13, E₂ tiene, además, -



un doble enlace cis en la posición 5, E₃ tiene un tercer-
doble enlace en la posición 17, etc. Las fórmulas estructu-
rales de 14 prostaglandinas de origen natural aparecen en
la figura 3 de la referencia Horton, antes citada.

5. Las prostaglandinas tienen una gran diversidad-
de acciones farmacológicas en los seres humanos y anima-
les, siendo activas en diversas áreas tales como la ferti-
lidad, transporte de espermatozoides, menstruación, parto, flujo-
de sangre placentario, secreción gástrica, contractilidad
10. muscular (incluyendo el músculo liso vascular, músculo li-
so respiratorio, músculo liso gastrointestinal, músculo -
liso uterino, y músculo liso capsular esplénico), el desa-
rrollo de los tejidos epidérmicos y los transmisores ner-
viosos centrales. Se cree también que las prostaglandinas
afectan a la permeabilidad, por ejemplo a la piel y a los
15. ojos. Así pues, se ha sugerido que las prostaglandinas --
pueden actuar como mediadores de varias formas de inflama-
ción. Este papel en la inflamación es apoyado fuertemente
por la presencia de prostaglandinas en el proceso infla-
20. matorio en las articulaciones, la piel y los ojos.
- Por ejemplo, en el área de la reproducción, el-
control de las prostaglandinas podría conducir a la inhibi-
ción o a la promoción directa de la fertilidad tanto en -
la hembra como en el macho puesto que las prostaglandinas
se hallan normalmente en elevadas concentraciones en el -
25. semen y es sabido que afectan de manera importante al mús-
culo liso del aparato reproductor de la hembra. Igualmen-
te, la asociación de niveles subnormales de prostaglandi-
na con la esterilidad en el hombre permite apoyar la - - -
30. hipótesis de que las prostaglandinas tienen un papel de -



facilitar la concepción. Así pues, el control específico de estas prostaglandinas podría conducir a un medio para cambiar o regular la fertilidad o esterilidad en el macho o la hembra.

5. Con respecto al parto, es sabido que el líquido amniótico durante los dolores del parto contiene una cantidad considerablemente mayor de prostaglandinas que el líquido amniótico antes de la iniciación de los dolores del parto. Así pues, es razonable concluir que las prostaglandinas contribuyen a las contracciones uterinas durante el parto. El control específico de estas prostaglandinas podría conducir a lograr medios anti-abortivos o abortivos terapéuticos y ser de gran valor en obstetricia.

10. Las prostaglandinas han sido identificadas en el sistema nervioso central y es sabido que son liberadas por el cerebro y la médula espinal por estimulación de los nervios y son constituyentes normales del líquido cerebro-espinal. Horton, antes citado, indica (en la página 136) que el descubrimiento de un antagonista específico de la prostaglandina sería de enorme utilidad para establecer las cuestiones que han sido suscitadas con relación a la función de las prostaglandinas en el sistema nervioso central.

15. Ciertas prostaglandinas han resultado ser poderosos vasodilatadores en la mayoría de los fondos vasculares y deben ser consideradas como posibles mediadores locales del flujo sanguíneo a la vista de su extensa distribución en los tejidos. Igualmente, la identificación de una prostaglandina vasodilatadora en la médula renal saca

20.
25.
30.



la consecuencia de que las prostaglandinas ejercen un papel en el control del flujo sanguíneo renal y sirven de factores etiológicos en la hipertensión renal.

5. Se ha encontrado prostaglandinas en los pulmones y se ha pretendido que están relacionadas en algún modo con el asma bronquial. Las prostaglandinas están presentes en el estómago y el intestino y son liberadas espontáneamente por varias partes del aparato gastro-intestinal. Se tiene la evidencia de que la circulación de las prostaglandinas puede producir diarrea.

10. A la vista del campo antes citado en el que pueden ser de importancia las prostaglandinas, resulta evidente que el control específico de la actividad de las prostaglandinas podría conducir al control de funciones corporales que eran hasta ahora inalcanzables.

15. El 3', 5'-monofosfato (cíclico AMP) de adenosina es sensible a las hormonas, es decir, cuando una hormona alcanza una célula, el nivel del AMP cíclico asociado con tal célula se desarrolla y procede a excitar e amplificar la actividad hormonal. Se encuentra el AMP cíclico en la mayoría de las células animales y tiene importancia en la función muscular, en la secreción gástrica y enzimática, en el sistema nervioso central, en el metabolismo celular y en la producción y liberación de hormonas. El AMP cíclico se deriva del trifosfato de adenosina (ATP), una sustancia clave para producir energía en las células por una reacción que es catalizada por la ciclasa de adenilo. Se ha sugerido que las prostaglandinas actúan como reguladores de retroalimentación para el AMP cíclico ya que las prostaglandinas parecen a menudo ser liberadas en respuesta a las mismas hormonas que estimulan la ciclasa de adenilo.



lo y en muchos casos las prostaglandinas actúan para suprimir la acumulación de AMP cíclico. De este modo, al igual que con las prostaglandinas, el control de la actividad -- AMP cíclico podría conducir de un modo similar a lograr un control de funciones corporales hasta ahora inalcanzables. A la vista de lo que preceden, el término "antagonista de la prostaglandina" según se utiliza en la presente Memoria Descriptiva hará referencia a antagonistas de la prostaglandina y/o el AMP cíclico.

10. La patente de Diczfalusy, y otros, Patente estadounidense nº 2.962.515 y las patentes de Ferno, y otros, Patentes estadounidenses nº 2.962.495 y 3.317.383 describen sustancias de ésteres fosfóricos polímeros de elevado peso molecular (pesos moleculares de 2.000-50.000) obtenidas por fosforilación de las flavonas, flavanonas, chalconas y dihidrochalconas conteniendo al menos un grupo --

15. hidroxilo fenólico, como por ejemplo, sustancias tales como el fosfato de polifloreína, el fosfato de polimetilfloreína, fosfato de poliquercetina, fosfato de polinarigenina y fosfato de poliesperetina. Las patentes de Diczfalusy, y otros, y las de Ferno, y otros, indican que las sustancias han aumentado el efecto anti-enzimático sobre la hialuronidasa.

20. Ciertos ésteres fosfóricos polímeros, incluido -- el fosfato de polifloreína, actúan para bloquear selectivamente las acciones de las prostaglandinas. Se ha comprobado que esta actividad de bloqueo de la prostaglandina -- no está relacionada con la capacidad de estas sustancias -- fosfóricas polímeras para inhibir la hialuronidasa.

25. Se ha descubierto ahora que la capacidad de --

30.



- ciertos ésteres fosfóricos polímeros para bloquear las prostaglandinas es, en efecto, una propiedad que solo tienen las especies de bajo peso molecular de estos polímeros, es decir, el dímero, trímero y tetramero y especialmente el dímero. Igualmente, según se muestra en los EJEMPLOS QUE SIGUEN, los polímeros de bajo peso molecular han demostrado tener una actividad anti-postaglandina tan elevada como 26 veces la actividad de la misma concentración del polímero como un todo. Además, según se muestra en los EJEMPLOS QUE SIGUEN, los polímeros de bajo peso molecular han demostrado no tener prácticamente actividad anti-hialuronidasa.
- 5.
- 10.

SUMARIO DE LA INVENCION

- La presente invención es relativa a compuestos que comprenden ésteres fosfóricos polímeros en los que los radicales de ácido fosfórico están interconectados por enlaces de éster a través de grupos orgánicos, siendo cada grupo orgánico un residuo de un glicósido de un compuesto polihidroxi seleccionado del grupo consistente en flavonas, flavanonas, chalconas y dihidrochalconas, siendo dichos ésteres fosfóricos polímeros antagonistas de la prostaglandina que no tienen prácticamente actividad antihialuronidasa y teniendo un peso molecular de menos de 1.400 aproximadamente.
- 15.
- 20.

- La presente invención se refiere también a un método de separación de antagonistas de la prostaglandina de bajo peso molecular a partir de ésteres fosfóricos polímeros de peso molecular elevado en los que los radicales de ácido fosfórico están interconectados por enlaces de éster a través de grupos orgánicos, siendo cada
- 25.
- 30.



grupo orgánico un residuo de un glicósido de un compuesto-
5. poli-hidroxi seleccionado a partir del grupo consistente -
en flavonas, flavanonas, chalconas y dihidrochalconas, con-
sistiendo en hacer pasar los ésteres fosfóricos polímeros-
de peso molecular elevado a través de un material capaz --
de sufrir una fraccionación molecular física y recuperar--
la porción de los ésteres fosfóricos polímeros que tienen-
un peso molecular de menos de 1.400 aproximadamente.

10. La presente invención se refiere también a un --
método de bloqueo de las acciones de las prostaglandinas -
en los seres humanos y animales que consiste en adminis--
trar a los seres humanos o animales una cantidad efectiva-
de los compuestos de bajo peso molecular descritos más - -
arriba en combinación con transportadores farmacéuticos --
15. apropiados.

La presente invención se refiere también a méto-
dos de sintetización química de antagonistas de la prosta-
glandina de bajo peso molecular del tipo descrito más - --
arriba que consiste en disolver una cantidad apropiada de-
20. compuesto monómero formador de polímero según se ha descri-
to más arriba en un disolvente, tal como la piridina, qui-
nolina o el benceno, capaz de activar la fosforilación por
un agente de fosforilación tal como el oxloruro de fósfo-
ro, el dicloruro metilfosforemídico, o el p-nitrofenilfos-
25. forodichloridato, añadiendo el agente de fosforilación de--
seado con o sin adición de agentes activadores de fosfori-
lación convencionales, y dejando reaccionar la mezcla de -
reacción hasta alcanzar el grado deseado de polimerización,
e hidrolizando finalmente el producto de la reacción.

30.



BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

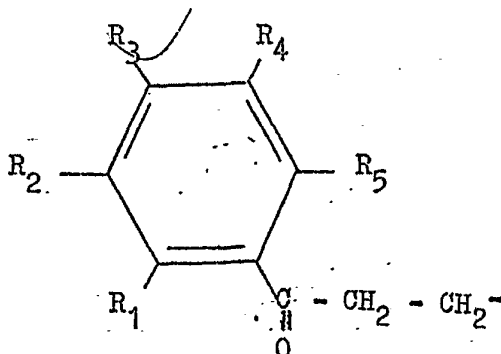
Las figuras 1-6 muestran gráficos relativos a los hallazgos experimentales descritos en los EJEMPLOS que siguen:

DESCRIPCION DE LA INVENCIÓN

De acuerdo con la invención se proporciona unos compuestos que tienen las siguientes fórmulas:

- (1) $AB-PO_4-BA$;
- (2) $AB-PO_4-BA-PO_4-BA$;
- (3) $AB-PO_4-BA-PO_4-AB-PO_4-BA$; y
- (4) $PO_4 (AB)_3$

donde A representa el grupo de la fórmula:



en la que

R₁ es OH u OX,

R₂ es H, Cl, F₃C, F o X;

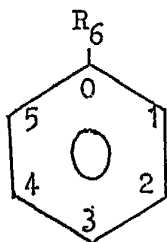
R₃, R₄ y R₅ son cualquier grupo que no sea suficientemente grande para producir impedimento estérico con el resto de

la molécula. Los ejemplos de los grupos que pueden estar presentes como sustituyentes en las posiciones R₃, R₄ y R₅ comprenden el halógeno, por ejemplo F o Cl, nitro, H, OH, X o OX; y

donde X es metilo, etilo, n-propilo o i-propilo; y

donde B representa el grupo de la fórmula:

**POOR
QUALITY**



5.

donde R_6 es H o F o fenilo y el grupo AB es formado uniendo la posición 4 de B con el átomo de carbono terminal de la cadena alquílica de A; estando enlazadas las unidades AB así formadas por un grupo de fosfato unido en la posición 1 de cada anillo B.

10.

Las posiciones 2 ó 3 en el anillo B pueden ser sustituidas por un grupo no suficientemente grande para producir el impedimento estérico, tal como, por ejemplo, X, cuando X es definido como más arriba, H, F, Cl, OH,

15.

CH_2OH , y C_2H_4OH . La posición 5 del anillo B puede ser sustituida por compuestos, tales como, por ejemplo, grupos alquilo hasta C_6H_{13} ; preferentemente de cadena lineal hasta el átomo de carbono -Y, $OCOCH_3$, CH_2Ph , C_2H_4Ph y C_3H_5Ph . Un sustituyente particularmente apropiado en la posición

20.

5 es el C_3H_6Ph , el anillo de benceno puede ser sustituido en la posición meta por un grupo hidroxilo. El indol u otro anillo lipofílico puede reemplazar al anillo de benceno como sustituyente en la posición 5.

25.

Aunque, en general, cada grupo AB del polímero es sustituido del mismo modo, ha de sobreentenderse que los sustituyentes pueden ser los mismos o diferentes en cada grupo AB del polímero.

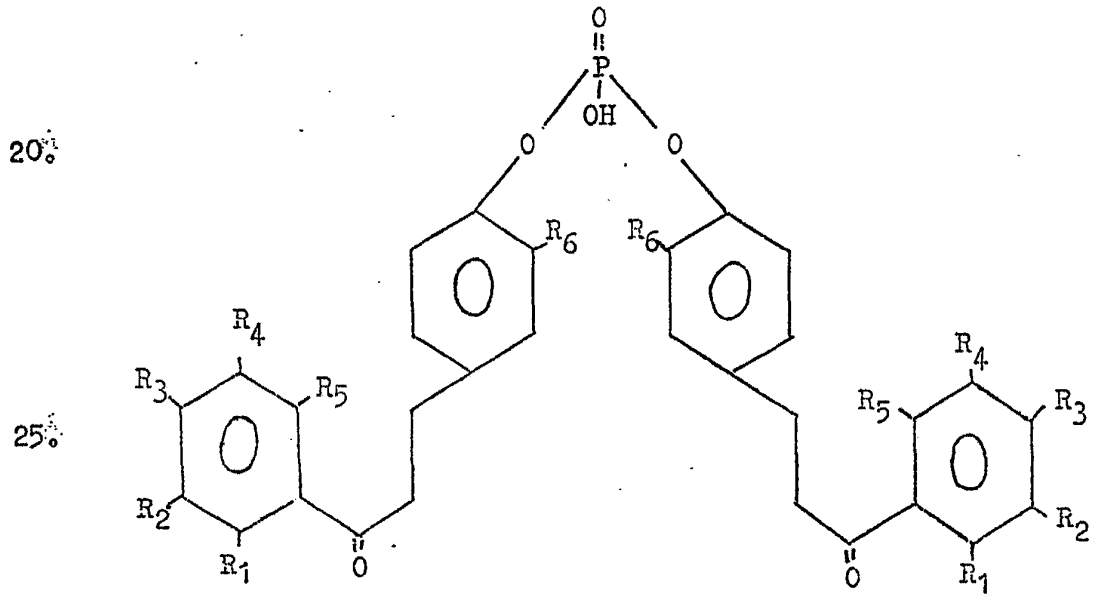
30.

Son ejemplos de compuestos apropiados dentro del marco de la presente invención, los dímeros, trímeros y



tetrámeros anteriormente descritos que tienen los siguientes sustituyentes:

- 5.
- (1) R_1 es OH u OX donde X es según se ha definido más arriba; y R_2, R_3, R_4, R_5 y R_6 son todos H.
- (2) R_1 es OX donde X es según se ha definido -- más arriba, o, preferentemente, OH;
 R_2 es H;
 R_3 es CH_3 ;
10. R_4 es OCH_3 ;
 R_5 es H; y
 R_6 es H o F; y
- (3) Los compuestos definidos en (2) más arriba, donde R_4 es OH o CH_2OH o C_2H_4OH .
15. Un compuesto preferido de la invención tiene la fórmula:



1 MAR 1974

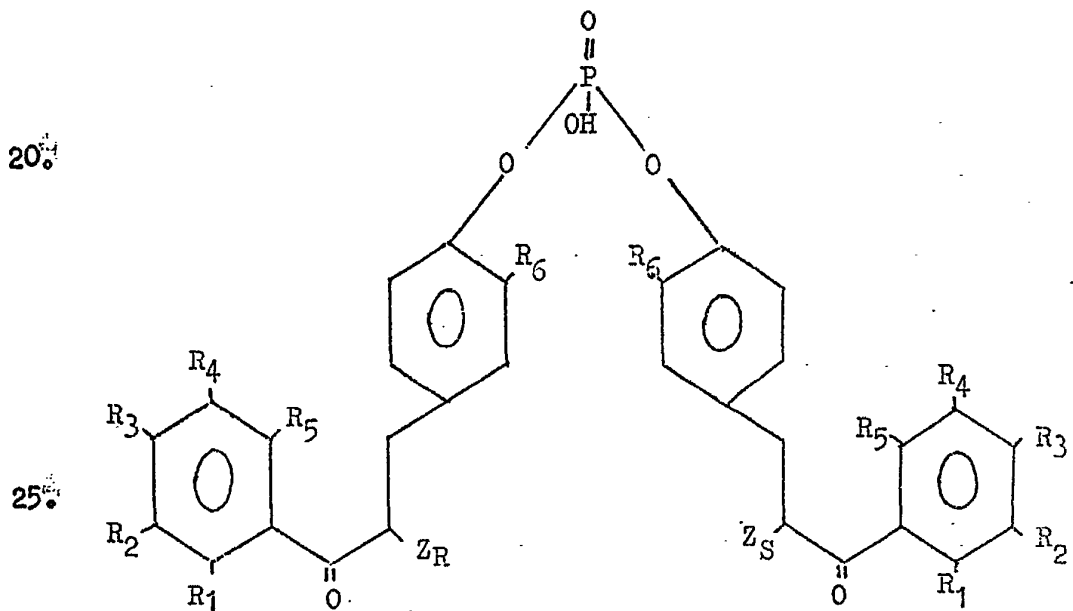
donde R_1 es OH u OX donde X es según se ha definido y R_2, R_3, R_4, R_5 y R_6 son H.

Otros compuestos apropiados comprenden los compuestos en los que

- 5. (1) R_1, R_3 y R_5 son OX donde X es como se ha definido más arriba, y R_2, R_4 y R_6 y H;
- (2) R_1, R_4 y R_5 son OX donde X es según se ha definido más arriba y R_2, R_3 y R_6 son H; y
- (3) R_1 y R_5 son OX, donde X es según se ha definido más arriba, R_4 , es X y R_2, R_3 y R_6 son H.

Los sustituyentes pueden ser los mismos o diferentes en las dos partes de la molécula. Si R_1 es OH u OX, entonces R_2 es preferentemente H. De un modo similar, a causa de la simetría, si R_5 es OX, R_4 es preferentemente H.

Otro compuesto de la invención es el de fórmula:

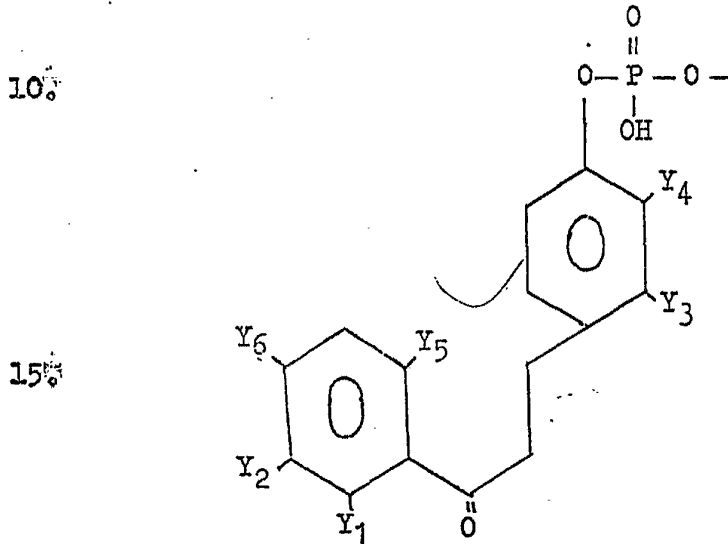




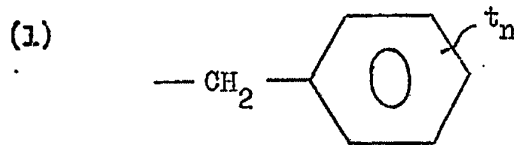
donde Z es un grupo fenilo o bencilo, (el subíndice R y S denota la configuración estereoquímica) y los sustituyentes R_1-R_6 son según ha quedado descrito.

5. El anillo bencénico de Z puede ser sustituido por t_n según se define más abajo:

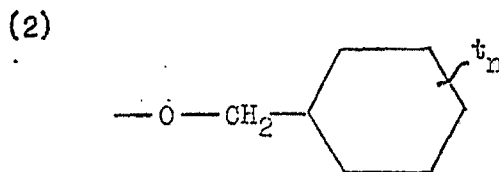
Otros compuestos de la invención incluyen los dímeros, trímeros, y tetrameros que tienen la siguiente fórmula de monómero repetido:



15. e Y_1, Y_5 e Y_6 pueden ser $-OH$ o $-H$ y
20. donde Y_2, Y_3 , e Y_4 pueden ser $-OH$ o $-H$ o



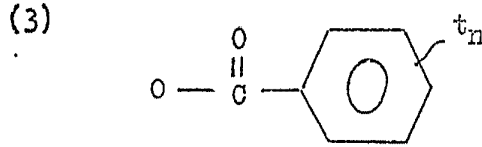
25. donde t es H, CH_3 , F, Cl u OCH_3 ; y n es 1-5 o



30.

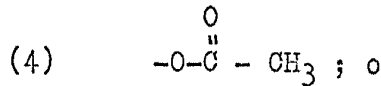


donde t_n es definido como anteriormente; o

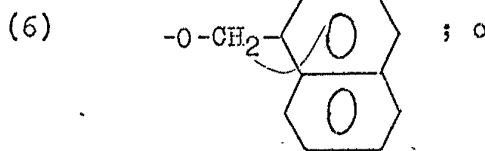
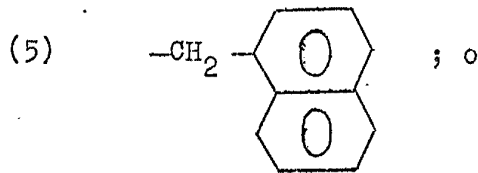


5%

donde t_n es definido más arriba; o



10%



15%

(7) Grupos alquilo que tienen 1-6 átomos de carbono (de cadena lineal o ramificada); y

20%

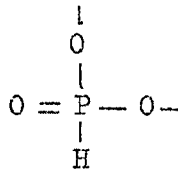
(8) $-(CH_2)_n-NR_2$ donde n es 1-6 y R es H, CH_3 o C_2H_5 ; y

donde Y_1, Y_2, Y_3 e Y_4, Y_5 e Y_6 pueden ser iguales o diferentes.

25.

Los polímeros de bajo peso molecular de la presente invención pueden ser modificados reemplazando el grupo PO_4 por otro grupo de enlace comparable tal como SO_4 o

30%





Se observará también que los diversos grupos - de los reactantes pueden tener sustituyentes de anillo - diferentes entre sí.

5. El modo de formación de los ésteres fosfóricos polímeros de peso molecular elevado no forma parte de la presente invención. Se puede hallar una descripción completa de estos polímeros de peso molecular elevado así - como de los métodos de preparación de los mismos en la -
10. patente estadounidense nº 2.962.515, concedida a favor - de Diczfalusy, y otros, y en las patentes estadouniden- ses de Ferno, y otros, números 2.962.495 y 3.317.383. -- Las partes de la patente de Diczfalusy, y otros y de las patentes de Ferno, y otros, que se refieren a los ésteres fosfóricos polímeros de peso molecular elevado (superior a 2.000) y a su método de fabricación quedan de este mo- do incorporadas a título de referencia.
- 15.

Los polímeros de bajo peso molecular (inferior a 1.400 aproximadamente) de la presente invención pueden ser fabricados de los siguientes modos:

20. (1) Fraccionación Física

- (a) Los polímeros de bajo peso molecular pue- den ser separados a partir de los polímeros de peso mo- lecular elevado descritos más arriba por fraccionación - física empleando filtración de gel. El proceso de filtra- ción de gel consiste en hacer pasar una solución del ma- terial a fraccionar a través de una cantidad apropiada -
25. de gel hidrófila. Las moléculas del material a fraccionar que son mayores que los poros mayores de la gel no pue- den penetrar en la gel y por consiguiente pasan a través de la columna en la fase líquida por fuera de las parti-
- 30.

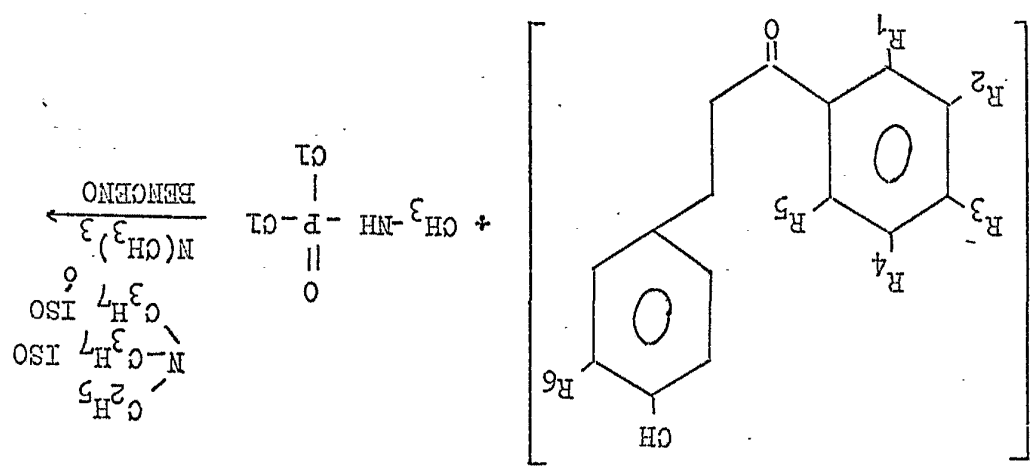
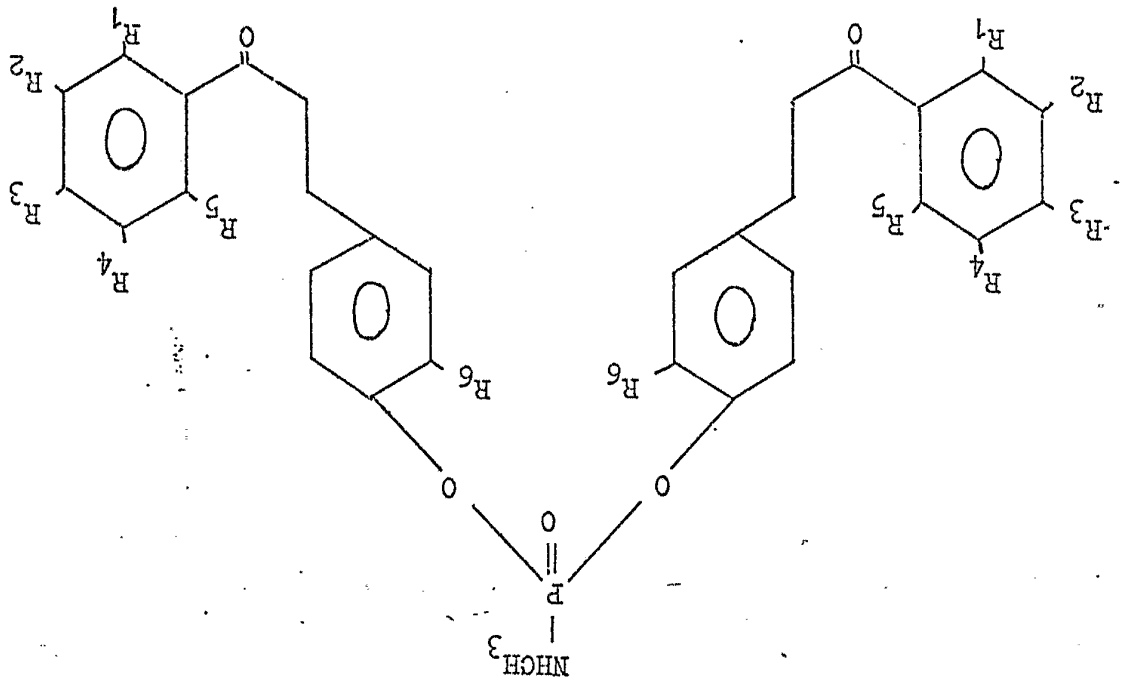


culas de gel. De este modo, las partículas más grandes -
(los polímeros de peso molecular más elevado) son eluí--
das primeramente. Las moléculas más ligeras penetran, --
sin embargo, en la gel en grados variables dependiendo --
5. de su tamaño y forma. De este modo, los polímeros restan--
tes son eluidos de la columna por orden de su peso mole--
cular decreciente. Son materiales típicos apropiados pa--
ra ser utilizados en la filtración de gel las perlas es--
féricas de poliacrilamida hidrófila conocidas por Bio-Gel
10. [®]P, que se pueden obtener de los Bio-Rad Laboratories y
las perlas polímeras de dextrano degradado hidrófilas y--
modificadas conocidas por Sephadex, que se pueden obte--
ner de Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Suecia.

15. (b) Se puede separar los polímeros de bajo pe--
so molecular a partir de polímeros de peso molecular ele--
vado por fraccionación física empleando diálisis usando--
un equipo, técnicas y materiales de diálisis convenciona--
les.

(2) Síntesis Química

20. (a) Los compuestos de la invención pueden ser--
fabricados mediante la polimerización controlada de la -
flavona, flavanona, chalcona o dihidrochalcona convenien--
tamente sustituidas en presencia de dicloruro metilfos--
foramídico y trietilamina o etildiisopropilamina en un -
25. disolvente inerte, por ejemplo, benceno, como sigue:



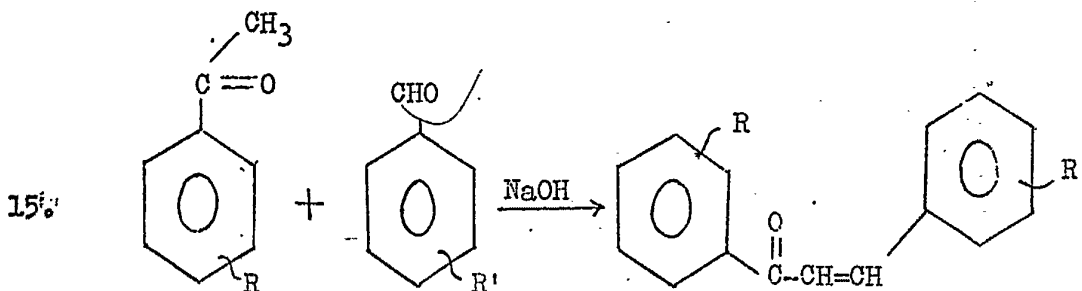


La hidrólisis del fosforemidoato produce el dímero de fosfato. El trímero y tetrámero pueden ser producidos repitiendo la operación de acoplamiento, pero en tales casos es esencial que R_3 sea OH u OX como se ha definido más arriba.

5°

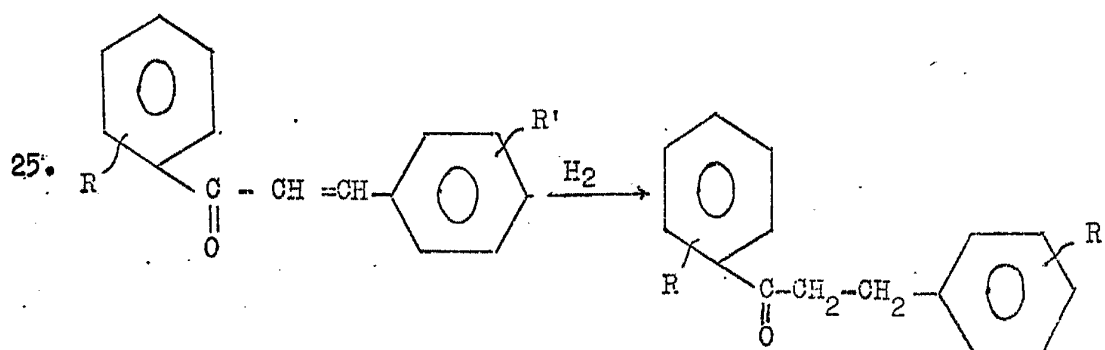
(b) Para formar la chalcona convenientemente sustituida se puede condensar una acetofenona sustituida con un benzaldehído sustituido en presencia de un catalizador básico como sigue:

10°



20°

El producto de condensación puede ser hidrogenado entonces selectivamente como sigue para formar la dihidrochalcona correspondiente:



30°



Las moléculas de la dihidrochalcona sustituida así formadas pueden ser enlazadas según se ha indicado más arriba - en 2 (a).

5. (c) De un modo similar se puede usar otros compuestos de acoplamiento tales como, por ejemplo, el oxiclo-
ruro fosforoso o el p -nitrofenilfosforodichloridato puede-
ser sustituido por el dichloruro metilfosforamídico usado -
más arriba en (a).

10. Se formula así la hipótesis de que los polímeros
fosforilados de bajo peso molecular de la presente inven-
ción son especialmente potentes agentes bloqueadores de -
las prostaglandinas debido a su configuración, es decir, -
a la falta de impedimento del grupo de fenol y la cadena -
de carbono unida, lo que permite formar una configuración-
15. en hélice que permiten al parecer a los polímeros, fosfo-
rilados de bajo peso molecular bloquear selectivamente las
prostaglandinas.

20. La cantidad de ésteres fosfóricos polímeros de -
bajo peso molecular que constituyen una cantidad efectiva-
varía según el tipo de actividad de la prostaglandina que-
se bloquee, el modo de administración del agente de bloqueo,
por ejemplo tópica o sistemáticamente y si el bloqueo es -
in vivo o in vitro. Por ejemplo, con respecto al material-
de bajo peso molecular derivado del fosfato de polifloretili-
25. na aproximadamente 0,1-200 mg/ml de fluido de bañado del -
baño del órgano bloquea el efecto de las prostaglandinas -
sobre un tejido muscular liso in vitro; aproximadamente -
0,01 ml. o una solución al 1-10% administrada tópicamente-
30. in vivo al ojo del conejo antagoniza el efecto de las prog-
taglandinas sobre la presión intraocular; los efectos - -



in vivo de las prostaglandinas sobre la presión sanguínea y las heces (formación de diarrea) en los ratones son bloqueados mediante inyecciones intraperitoneales en cantidades de 1-200 mg/kg de peso corporal.

5.

Se puede continuar la descripción e ilustración de la presente invención haciendo referencia a los siguientes ejemplos, Se sobreentiende que los ejemplos no son facilitados más que con fines de ilustración y que la invención no debe ser considerada como limitada a ninguno de los compuestos o condiciones específicos aquí mencionados.

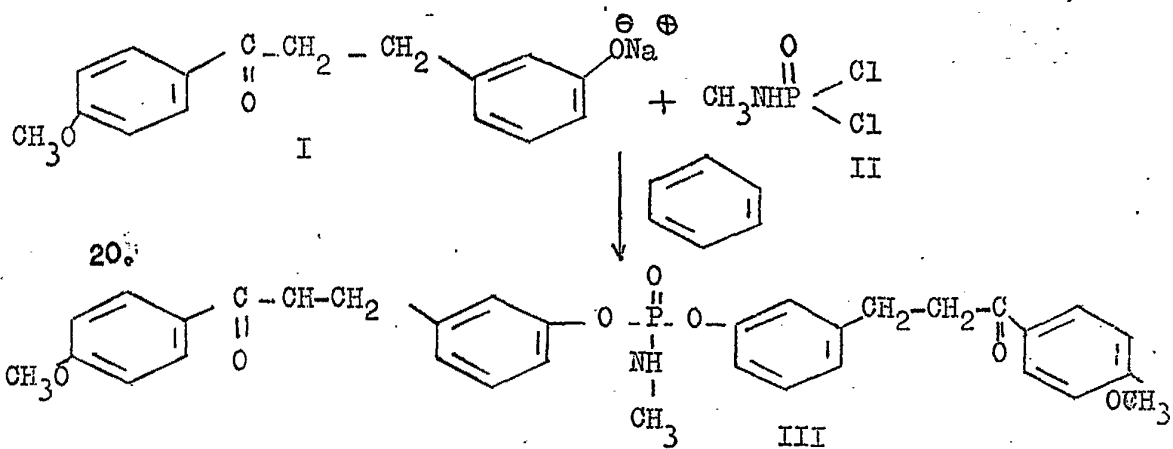
10.

EJEMPLO I

Preparación del dímero de 3-hidroxi-4'-metoxi dihidrochalcona.-

(a) Se prepara el compuesto III del siguiente modo:

15. modo:



20.

25.

30.

A 2,2 g. (0,008 moles) de (I) en 50 ml. de benceno seco se añadieron 0,6 g. (0,004 moles) de dicloruro metil fosforamídico. La mezcla fue agitada y tratada en reflujo por espacio de 3 horas. La solución fue enfriada y lavada 3 veces con 30 ml de agua. La capa orgánica fue secada --

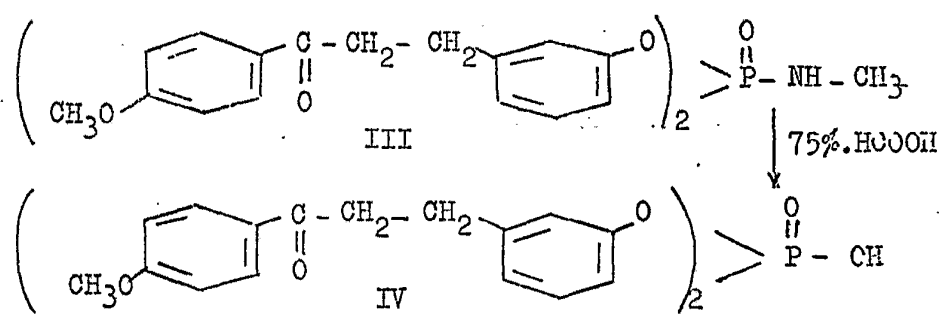


(Na₂SO₄) y evaporada hasta la sequedad para dar un aceite de color amarillo, 1,4 g. identificado como III por N.M.R.

(b) Se prepara entonces el compuesto IV por la hidrólisis del dímero defosforamidato (III):

5.

10.



15.

Se disolvieron 0,8 g. del compuesto III en 25 ml. de solución acuosa de ácido fórmico al 75% y se agitaron a temperatura de reflujo durante 15 minutos. La solución fue reducida a un aceite bajo vacío al baño de María a la temperatura de 65°C. Se añadió al aceite 30 ml. de benceno y la solución de benceno fue lavada entonces con 4 x 20 ml. de agua. Los extractos de benceno fueron secados (Na₂SO₄) y evaporados para dar un aceite de color oscuro, 0,6 g. identificados como IV por N.M.R.

20.

25.

EJEMPLO II

Se prepararon más compuestos análogos al compuesto preparado en el EJEMPLO I variando la posición y naturaleza de los sustituyentes en los anillos.

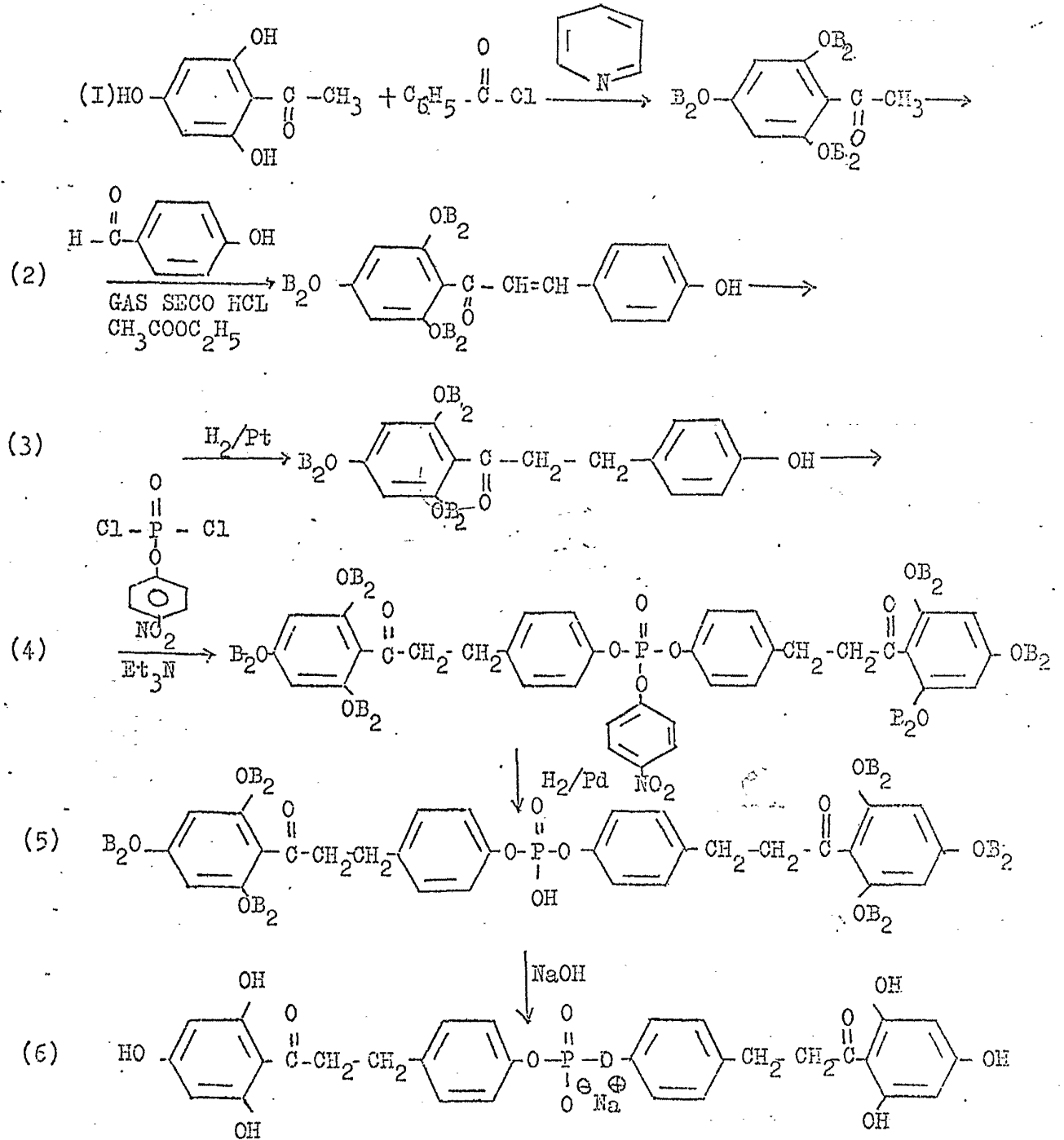
EJEMPLO III

30.

Preparación de la sal sódica del fosfato de difloreotina (DFP).



Las siguientes reacciones (1) a (6) son seguidas secuencialmente donde B₂ es C₆H₅-C(=O)-



SAL SODICA DE DPP

**POOR
QUALITY**



EJEMPLO IV

(a) Se repite los EJEMPLOS I y II, con la excepción que se utilizó POCl_3 , y *p*-nitrofenilfosforecloridato en vez de $\text{CH}_3\text{NHPOCl}_2$. Se lograron resultados comparables.

5. (b) La sal sódica de fosfato de difloretina del EJEMPLO III se convierte en fosfato de difloretina por tratamiento con HCl hasta alcanzar el pH ácido.

EJEMPLO V

10. Se forma el trímero de fosfato de floretina -- haciendo reaccionar el fosfato de difloretina bajo las --- condiciones de reacción del EJEMPLO III con el compuesto--- mostrado en el paso 3 del EJEMPLO III.

EJEMPLO VI

15. Se forma el tetrámero de fosfato de floretina -- haciendo reaccionar juntas dos moléculas de fosfato de -- difloretina bajo las condiciones del EJEMPLO III.

EJEMPLO VII

20. Las actividades estimulantes del músculo liso -- intestinal de las prostaglandinas son bien conocidas en -- varias especies, tanto in vitro como in vivo. Se ha observado heces semi-flúidas y diarrea como efecto secundario -- después de la inyección de las prostaglandinas por vía intravenosa para el aborto anticipado y causar los dolores -- del parto. La finalidad de este EJEMPLO es demostrar que --
25. el fosfato de polifloretina ¹ (PPP) y el fosfato de difloretina ¹ (DPP) pueden oponerse a la diarrea ocasionada por la prostaglandina en los ratones y que el DPP es un antagónista más potente que el PPP.

Métodos

30. Se usaron en este estudio ratones suizos albinos



de ambos sexos con pesos comprendidos entre 20 y 25 grs. A los animales se les permitió un libre acceso al alimento y al agua. Se provocó la diarrea en grupos de 12 ratones por la inyección intraperitoneal o intravenosa (vena de la cola) de prostaglandina E₂ (PGE₂). La aparición de heces semi-flúidas dentro de 30 minutos después de la inyección de prostaglandina fue anotada como una respuesta positiva. La dosis más baja de PGE₂ necesaria para producir una respuesta positiva de ED 100 resultó ser de 50 ug/kg para la inyección intraperitoneal y 250 ug/kg para la inyección intravenosa. Se dieron dosis variables de PFP y DFP en un volumen por dosis de 0,5 ml de 15 a 20 minutos antes de la administración de la PGE₂. En las siguientes Tablas 1-3 pueden verse los resultados obtenidos.

Tabla 1

	<u>Dosis de PFP (mg/kg)</u>			
	<u>Sal purgante</u>	<u>50</u>	<u>100</u>	<u>200</u>
diarrea provocada	11/12	8/12	3/12	0/12

20. PFP intraperitoneal seguido en 15 minutos por 50 ug/kg de PGE₂ por vía intraperitoneal.

(1) A.B. Leo, Halsinborg, Suecia.

25.



Tabla 2

		<u>Dosis de PFP (mg/kg)</u>				
<u>Sal purgante</u>		<u>25</u>	<u>50</u>	<u>100</u>	<u>200</u>	
5.	diarrea provocada	11/12	10/12	9/12	3/12	0/12

PFP intraperitoneal seguido en 15 minutos por 250 ug/kg - de PGE₂ por vía intravenosa.

Tabla 3

		<u>Dosis de PFP (mg/kg)</u>						
<u>Sal purgante</u>		<u>10</u>	<u>15</u>	<u>20</u>	<u>25</u>	<u>30</u>	<u>35</u>	
10.	diarrea provocada	11/12	11/12	7/12	6/12	3/12	3/12	2/12

DPP intraperitoneal seguido en 20 minutos por 50 ug/kg. - de PGE₂ por vía intraperitoneal.

15.

Resultados

200 mg/kg de PFP permitieron bloquear completamente la diarrea que resultaría de otro modo de la administración de PGE₂ tanto por vía intraperitoneal como intravenosa (Tablas 1 y 2). Las dosificaciones más bajas de PFP fueron también efectivas proporcionalmente a las concentraciones administradas, con la dosificación ED₅₀ comprendida entre 50 y 100 mg/kg. El DPP fue considerablemente más potente que el PFP en el bloqueo de la diarrea con una dosificación ED₅₀ comprendida entre 15 y 25 mg/kg (Tabla 3). Aun grupo de control al que se le administró DPP solo a razón de 20 mg/kg respondió presentando un animal diarrea mostrando otros 3 algunas señales menores (defecación estimulada). Los ratones reaccionaron de manera similar a la administración-

25.

30.



- de PGE₂ prescindiendo de la vía de administración. Se volvieron inactivos, presentaron piloerección, y usualmente mostraron una postura de "estiramiento" que fue seguida invariablemente por la diarrea. La diarrea tuvo lugar, en
5. los grupos de control por sal purgante, dentro de 5 a 15 minutos después de la administración de PGE₂. En los grupos tratados con PPP y DPP si ocurrió la diarrea fue usualmente retardada un poco. Cuando se bloqueó la diarrea en un animal, éste no mostró indicio alguno de inactividad o piloerección.
- 10.

Discusión

- Estos experimentos demostraron que el PPP y el DPP eran capaces de contrarrestar la diarrea provocada por la PGE₂. El DPP era aproximadamente 5 veces más potente que el PPP; sin embargo, el DPP puede tener un ligero efecto combativo ya que por sí mismo, tendía a estimular la defecación.
- 15.

- En los EJEMPLOS que siguen el método de ensayo farmacológico fue el siguiente:
20. Roedores del campo de Tunez (Meriones Shawwi) pesando entre 50-150 gramos fueron matados de un golpe en la cabeza. Se retiró la parte media del colon ascendente, y se dispuso en un baño de órgano de 5 ml. conteniendo solución de colon de rata de Jaón a 28°C gaseada con oxígeno. Se usó un ciclo de dosis de 3-4 minutos y un tiempo de contacto de 1-2 minutos. Las contracciones fueron medidas isotónicamente con un transductor de músculos isotónico Brush usado junto con un aparato de registro Brush 220.
- 25.

- Antes de la prueba, se dejó el tejido en el baño del órgano durante 30 minutos con cambios repetidos en el
- 30.



- fluido del baño. Durante este período y el siguiente a la introducción de las pocas primeras dosis de prostaglandina, se ajustó la tensión en reposo para lograr un rápido retorno a la línea de base con la carga de palanca mínima. Se -
5. ajustó la sensibilidad electrónicamente de modo que la contracción máxima producida fuera ligeramente inferior a una deformación total de la pluma. Se determinó la actividad de bloqueo de la prostaglandina de fracciones de fosfato de polifloreína contra la prostaglandina $F_2\alpha$ usando fosfato de polifloreína que tenía un peso molecular medio de
10. 15.000 como norma.

EJEMPLO VIII

- Se preparó una muestra disolviendo 0,5 partes de fosfato de polifloreína ¹ (PPP) que tenía un peso molecular medio de 15.000 en 5 partes de agua destilada. Se neutralizó la solución al pH 7 con hidróxido IN sódico.
- 15.

(1) A.B.Leo, Halsingborg, Suecia.

- Se llenó una columna de vidrio de 1,5 cm x 80 cm. con gel de poliacrilamida Bio-Gel [®] p-2 hidratada (50-100 mallas). Se añadió la muestra a la parte superior del lecho y se eluyó en fracciones de 5 ml. usando agua purificada para inundar la columna. Estas fracciones fueron recogidas y se ensayó su actividad farmacológica.
- 20.

- Después de la elución de la totalidad de la presente muestra, se añadió un compuesto que tenía un peso molecular conocido a la parte superior del lecho y se eluyó en fracciones de 5 ml. usando agua purificada para inundar la columna. El compuesto conocido usado fue idoxuridina que tenía un peso molecular de 354.
- 25.
- 30.



La figura 1 es un gráfico que muestra el porcentaje de absorción ultravioleta y la actividad de bloqueo relativa de la prostaglandina de las fracciones recogidas en el EJEMPLO VIII. El diagrama del porcentaje de absorción ultravioleta (UV) es una medida de la cantidad de material orgánico en cada fracción de 5 ml. eluida de la columna. De este modo, el porcentaje de absorbencia de la luz ultravioleta de la fracción de 5 ml. entre 40 y 44 ml. es aproximadamente del 60% indicando una concentración relativamente alta de material orgánico. Por otro lado, el porcentaje de absorbencia de la luz ultravioleta de la fracción de 5 ml. tomada entre 95 y 99 ml. es aproximadamente del 15% indicando una concentración relativamente baja de material orgánico.

Se muestra el diagrama de la actividad de bloqueo de la prostaglandina sobre una escala que muestra la actividad relativa de las muestras de 5 ml. sucesivas, donde 1 es la actividad del polímero sin fraccionar. Por ejemplo, la actividad de la fracción de 5 ml. entre 115 y 119 ml. es de aproximadamente 13 y la actividad de la fracción de 5 ml. entre 80 y 84 es de aproximadamente 18.

La figura 3 muestra la Actividad Relativa de las fracciones recogidas en el EJEMPLO VIII. Se calcula la Actividad Relativa dividiendo la cifra de la Actividad de Bloqueo de la Prostaglandina por la cifra de % de Absorbencia Ultravioleta. El número resultante (Actividad Relativa) es una medida de la actividad de bloqueo de la prostaglandina del contenido de cada fracción teniendo en cuenta las concentraciones diferentes de material orgánico en cada fracción. De este modo, la actividad Relativa



5. permite comparar la actividad de cada una de las fracciones como si tuvieran las mismas concentraciones de material orgánico. La figura 3 muestra también los puntos -- en los que fueron eluidos de la columna los compuestos de peso molecular conocido, dando la confirmación a los cálculos teóricos discutidos más abajo.

10. La Tabla 1 que sigue muestra un cálculo teórico que indica el orden de magnitud de los pesos moleculares esperados usando el método convencional de cálculo indicado por el fabricante de la gel usada en el EJEMPLO VIII.

Tabla 1

<u>Peso Molecular</u>	<u>Milímetros Eluidos</u>
350	107
700	93
1.050	77
1.400	64

15. Basado en el análisis de la Tabla 1, las Figuras 1 y 3, puede verse que la actividad anti-prostaglandina -- se halla casi enteramente dentro de la gema de peso molecular de menos de 1.400 aproximadamente. De este modo la Figura 1 muestra que la actividad anti-prostaglandina comienza a la fracción de elución de 60--64 ml. La Tabla 1 indica que 64 es el punto al que debería aparecer un peso molecular de 1.400 y debería ser también el peso molecular del tetrámero de fosfato de polifloretilina. Este cálculo teórico tiende a ser confirmado en la Figura 3 en la -- que se eluyó un compuesto conocido que tenía un peso molecular de 350 entre 110 y 120 ml. La Tabla 1 indica que -- un compuesto que tenía un tamaño equivalente a un peso molecular de 350 debería ser eluido a 107 ml.

20.

25.

30.



EJEMPLO IX

Se repitió el EJEMPLO VIII con la excepción de que se usó el polímero de dextrano degradado "sephadex G-25 Medium" (diámetro de las partículas de 50-150 μ) en vez de la gel de poliacrilamida. Se recogieron y analizaron fracciones de 5 ml. para conocer su absorbencia ultravioleta. Se combinaron las fracciones en muestras de 10 ml. (se combinaron muestras sucesivas de 5 ml) y se ensayó su actividad farmacológica.

5.

La Figura 2 es un gráfico que muestra el porcentaje de Absorción Ultravioleta y la Actividad de Bloqueo de la Prostaglandina de las fracciones recogidas en el EJEMPLO IX.

10.

La Figura 4 es un gráfico que muestra la Actividad Relativa de las fracciones recogidas en el EJEMPLO IX. Hay que resaltar que la Actividad Relativa de algunas de las fracciones del EJEMPLO IX era muy elevada. De este modo, la fracción 20 tenía una actividad de 26,7 indicando que el material de dicha fracción era 26,7 veces más activo que la misma concentración del mismo fosfato de polifloretilina.

15.

20.

La Figura 5 es una superposición de las Figuras 3 y 4 mostrando la gran similitud cualitativa entre la Actividad Relativa de las fracciones del EJEMPLO VIII y el EJEMPLO IX.

25.

EJEMPLO X

Se preparó una muestra disolviendo 500 mg. de fosfato de polifloretilina¹ que tenía un peso molecular medio de 15.000 en 2,5 ml. de tampón de fosfato a pH 7. Se llenó una columna de vidrio de 1,5 cm x 90 cm con dextrano

30.

(1) A. B. Leo, Halsinborg, Suecia.



degradado "Sephadex G-25 Fine" (diámetro de las partículas 20-80 μ). Se añadió la muestra a la columna hidratada y se eluyó con agua destilada y se recogieron las fracciones. La figura 6 ilustra la separación de la actividad biológica en fracciones de peso molecular diferente. Resulta evidente que la actividad de bloqueo de la prostaglandina se localiza en las fracciones de bajo peso molecular.

5. Se combinaron también diferentes fracciones según se ha indicado en la Figura 6, y se secaron por congelación, comparándose la actividad farmacológica de los polvos secados por congelación (de las tres combinaciones) con la muestra original de fosfato de polifloreína. Según se muestra también en la Figura 6, el polvo secado por congelación de las fracciones 15-21 tenía aproximadamente la mitad de actividad que la muestra original de PFP. En contraste, el material secado por congelación de las fracciones 26-29 era 7,5 veces tan potente como la muestra original de PFP (sobre una base ponderal).

10. EJEMPLO XI

15. Este ejemplo muestra los datos indicativos de que la actividad anti-hialuronidasa de los ésteres fosforicos polímeros se localiza en las fracciones de peso molecular elevado que poseen muy poca actividad de bloqueo de la prostaglandina. Recíprocamente, las fracciones de bajo peso molecular con alta actividad para la prostaglandina poseen muy poca o ninguna actividad anti-hialuronidasa. Se muestra esto en los datos que siguen.

20. Se usó el ensayo turbidimétrico de la hialuronidasa (Meyer, Hoffman, and Liner, the Enzymes, 4, 2^a Edi-
- 25.
- 30.



ción, 447, Academic Press, Inc, New York, 1960) basado en el de Tolksdorf, y otros (J. Lab. Clin. Med. 34, 74, 1949) para comprobar la actividad anti-hialuronidasa del fosfato de polifloreína y las tres fracciones descritas en el - -

- 5. EJEMPLO X. Se ensayaron el PPP y las tres fracciones del mismo a concentraciones de 0, 01 mg/ml. Se comparó su potencia contra 0,0005 mg. de hialuronidasa actuando sobre 0,2 mg. de sustrato (ácido hialurónico).

La Tabla 2 que sigue expone los resultados.

10.

Tabla 2

<u>Compuesto</u>	<u>Actividad e Inhibición Anti-hialuronidasa</u>	<u>Actividad Anti-Prostaglandina (Según Fig. 6)</u>
PPP	75,0	1
Fracciones 1-11	90,0	0
15. Fracciones 15-21	8,0	0,6
Fracciones 26-29	3,5	7,5

- 20. Se puede separar claramente la actividad de bloqueo de la prostaglandina del fosfato de polifloreína de la actividad anti-hialuronidasa en lo que respecta al peso molecular. De este modo, el 90% de la actividad anti-hialuronidasa se encuentra dentro de la región de peso molecular elevado del PPP que no tiene actividad anti-prostaglandina mientras que la fracción de bajo peso molecular de PPP que tiene una actividad anti-prostaglandina de 7,5 veces la actividad del PPP tiene una actividad anti-hialuronidasa del 3,5% solamente.

25.

EJEMPLO XII

Se repitió el EJEMPLO VIII, con la excepción de que se sustituyeron los siguientes ésteres fosfóricos polímeros por el fosfato de polifloreína: fosfato de polimetil-floreína, fosfato de poli-quercetina, fosfato de poli-

30.



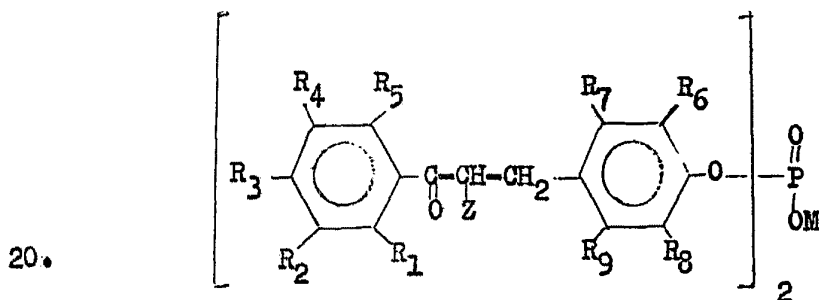
naringenina y fosfato de polihesperetina. Se lograron resultados similares.

N O T A

La Patente de Invención que se solicita por veinte - años, para España, de acuerdo con la vigente legislación, de
 5. berá recaer sobre: "METODO DE OBTENCION DE ESTERES FOSFORICOS ANTAGONISTAS DE LA PROSTAGLANDINA", con Prioridad de las demandas de Patentes en Estados Unidos de América nº 119.794, - de fecha 1 de Marzo de 1.971 y en Gran Bretaña nº 6035/71, de
 10. fecha 4 de Marzo de 1.971, según las características esenciales de las siguientes:

R E I V I N D I C A C I O N E S

15. 1ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, que tienen la siguiente fórmula estructural:



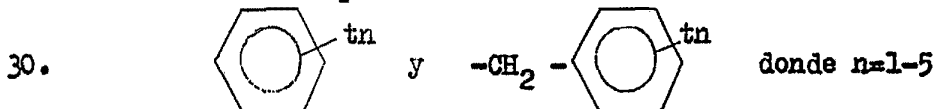
en la que R₁ es uno entre -H, -OH, alquilo o alcoxi teniendo 1-3 átomos de carbono;

R₂ es uno entre -H, -Cl, -F, -CF₃, alquilo teniendo 1-3 átomos de carbono;

25. R₃, R₄ y R₅ son, cada uno, uno entre -H, -OH, halógeno, nitro o alquilo y alcoxi teniendo 1-3 átomos de carbono;

R₆ es uno entre -H, -F, fénilo, -OH, -Cl, alquilo teniendo 1-3 átomos de carbono, -CH₂OH o -C₂H₄OH;

Z es opcionalmente un radical de la fórmula

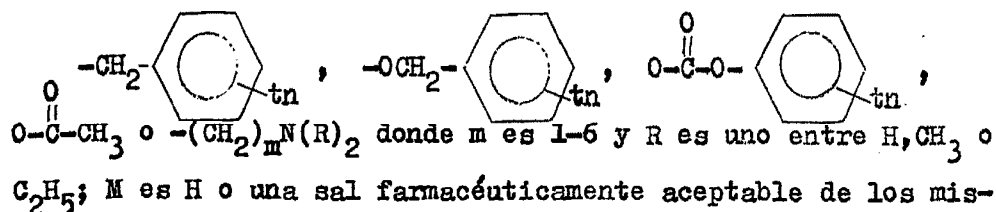




y t es uno entre -H, -CH₃, -F, -Cl o -OCH₃;

R₇ es opcionalmente uno entre un grupo alquilo que tiene 1-6 átomos de carbono, OCOCH₃, CH₂-fenilo, C₂H₄-fenilo, C₃H₆-fenilo o C₃H₆-m-OH-fenilo; R₈ y R₉ son cada uno, uno entre H, F, Cl, OH, CH₂OH, C₂H₄OH, alquilo teniendo 1-3 átomos de carbono,

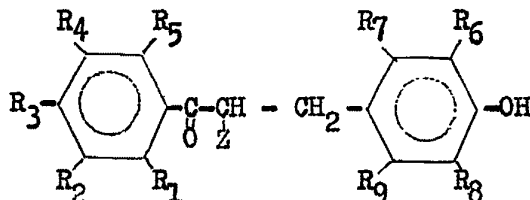
5.



10.

caracterizado porque se hace reaccionar una dihidrocalcona sustituida que tiene la siguiente fórmula:

15.



en la que R₁-R₉ y Z son definidos como antes, con un agente fosforilante en un disolvente capaz de fomentar la fosforilación y opcionalmente hidrolizando el producto de la reacción para producir los compuestos perseguidos.

20.

2ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según la reivindicación 1, caracterizado porque el agente fosforilante es el oxicloloruro fosforoso, el diclorofosforamidato de metilo o el diclorofosfato de p-nitrofenilo.

25.

3ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según la reivindicación 1, caracterizado porque, el que el disolvente es el benceno, piridina o quinolina.

30.

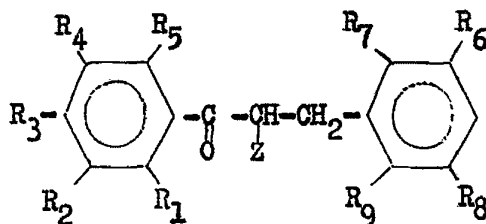
4ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según la reivindicación 1, caracterizado porque en el se hace reaccionar al compuesto con el -



agente fosforilante en presencia de trietilamina o etildisopropilamina.

5a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según la reivindicación 1, caracterizado porque en el se fabrica la dihidrocalcona sustituida que tiene la fórmula:

5.

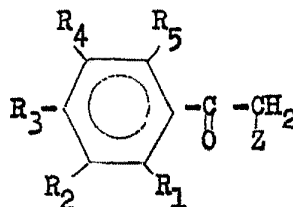


10.

donde Z es H

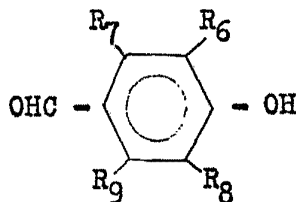
por condensación de una acetofenona α -sustituida que tiene la fórmula:

15.



20.

con un benzaldehído sustituido que tiene la fórmula:



25.

y reduciendo el producto de la reacción para formar la correspondiente dihidrocalcona sustituida.

6a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1a y 5a, caracterizado porque en el tiene lugar la reacción de condensación en presencia de un catalizador básico.

30.



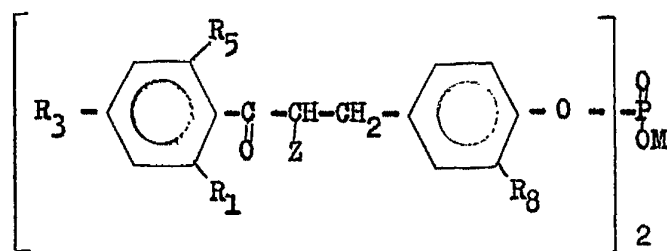
5. 7^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según la reivindicación 1^a, caracterizado porque cuando uno cualquiera de R₁-R₉ es hidroxilo, existe una etapa adicional consistente en bloquear los grupos hidroxilo R₁-R₉ antes de la etapa de fosforilación y retirar los grupos bloqueadores después de la etapa de fosforilación.

10. 8^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1^a y 7^a, caracterizado porque el grupo bloqueador es un radical benzoilo.

15. 9^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1^a y 8^a, caracterizado porque en él se transforma el radical benzoilo en un grupo bloqueador haciendo reaccionar una acetofenona que contiene un grupo hidroxilo con cloruro de benzoilo.

20. 10^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1^a y 9^a, caracterizado porque la acetofenona que contiene un grupo hidroxilo es la floroacetofenona.

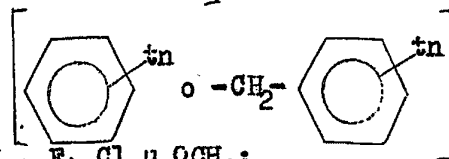
25. 11^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según la 1^a reivindicación, caracterizado porque en él se sintetizan los compuestos de fórmula



en la que

Z es H o un radical de la fórmula:

donde n es 1-5 y t es uno entre CH₃, F, Cl u OCH₃;

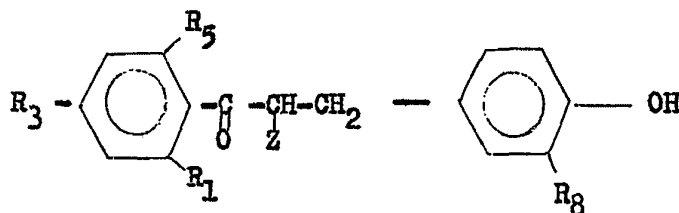


30. R₁, R₃ y R₅ son uno entre H, OH u OCH₃; R₈ es H o



$-(CH_2)_m N(R)_2$ donde m es 1-6 y R es uno entre H, CH_3 o C_2H_5 ; M es H o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y se hace reaccionar una dihidrocalcona sustituida que tiene la fórmula:

5.

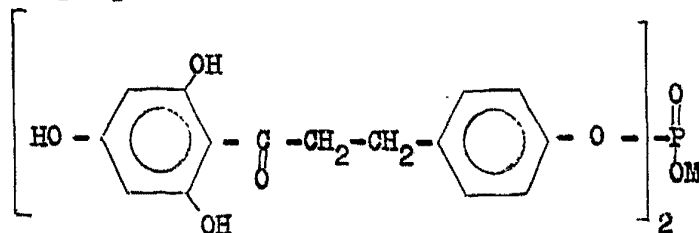


10. en la que R_1, R_3, R_5, Z y R_8 son definidos como antes, con un agente fosforilante en un disolvente capaz de fomentar la fosforilación y opcionalmente hidrolizando el producto de la reacción para producir los compuestos persiguídos fabricados por el proceso de la reivindicación 11.

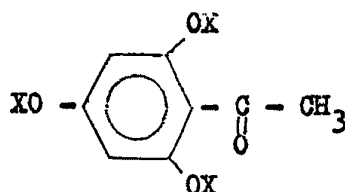
15. 12ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1ª y 11ª, caracterizado porque cuando uno cualquiera entre R_1, R_2 o R_3 es hidroxilo, existe una etapa adicional consistente en bloquear uno cualquiera de los grupos hidroxilo R_1, R_3 o R_5 antes de la etapa de fosforilación y retirando los grupos bloqueadores después de la etapa de fosforilación.

20. 13ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según la 1ª reivindicación, caracterizado porque en él se sintetizan los compuestos de fórmula:

25.



30. en la que M es H o una sal farmacéuticamente aceptable, y se hace reaccionar un compuesto que tiene la fórmula:



5. donde X es un radical bloqueador, con 4-hidroxibenzaldehído para formar la correspondiente calcona, reduciendo dicha calcona para formar la correspondiente dihidrocalcona, haciendo reaccionar dicha dihidrocalcona con un agente fosforilante en un disolvente capaz de fomentar la fosforilación para formar
10. la bis-calcona fosforilada, opcionalmente hidrolizando la bis-calcona fosforilada y retirando el radical bloqueador para formar los compuestos perseguidos.

14^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1^a y

15. 13^a, caracterizado porque en el X es un radical benzoilo.

15^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1^a y

14^a, caracterizado porque en el se fabrica el tribenzoato de floroacetofenona haciendo reaccionar la floroacetofenona con

20. cloruro de benzoilo.

16^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1^a y

15^a, caracterizado porque en el se retira el radical benzoilo por reacción de la calcona fosforilada con una base.

25. 17^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1^a y

13^a, caracterizado porque en el, el agente fosforilante es el oxiclорuro fosforoso, el diclorofosforamidato de metilo o el diclorofosfato de p-nitrofenilo.

30. 18^a.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antago-



nistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1ª y 13ª, caracterizado porque en el, el disolvente es el benceno, piridina o quinolina.

5. 19ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1ª y 13ª, caracterizado porque en el se hace reaccionar al compuesto con el agente fosforilante en presencia de trietilamina o etildisio propilamina.

10. 20ª.- Método de obtención de ésteres fosfóricos antagonistas de la prostaglandina, según las reivindicaciones 1ª y 13ª, caracterizado porque en el se produce la sal sódica por neutralización del producto resultante con NaOH.

21ª.- "METODO DE OBTENCION DE ESTERES FOSFORICOS ANTAGONISTAS DE LA PROSTAGLANDINA".

15. Según queda sustancialmente descrito en la presente memoria que consta de cuarenta hojas, escritas a máquina por una sola cara y dibujos.

Madrid, - 6 AGO. 1974

ALLERGAN PHARMACEUTICALS

20.

P.P.



Fig. 1

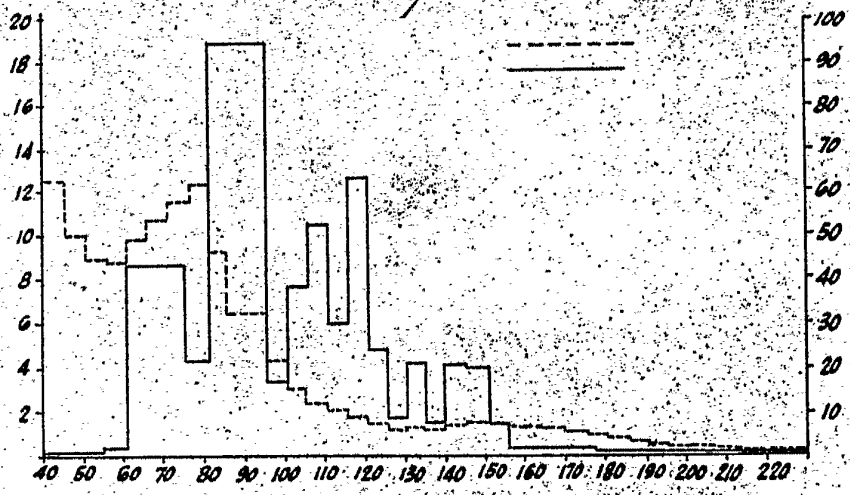
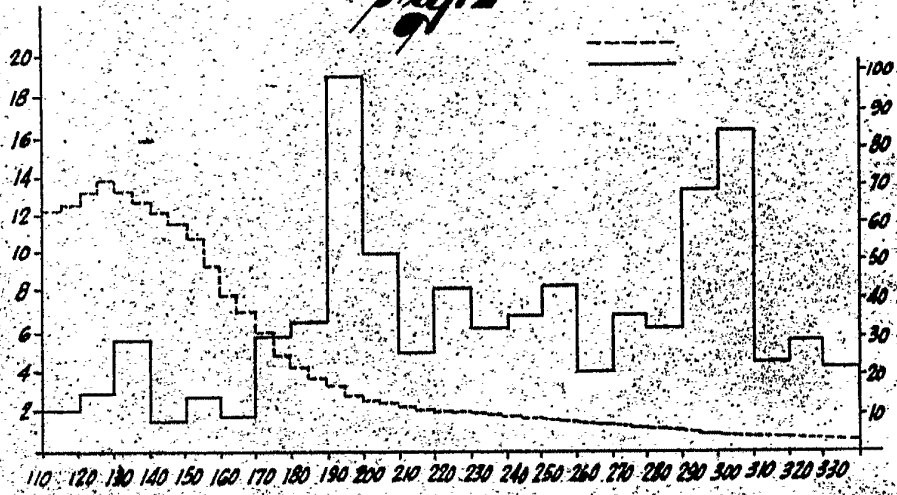


Fig. 2

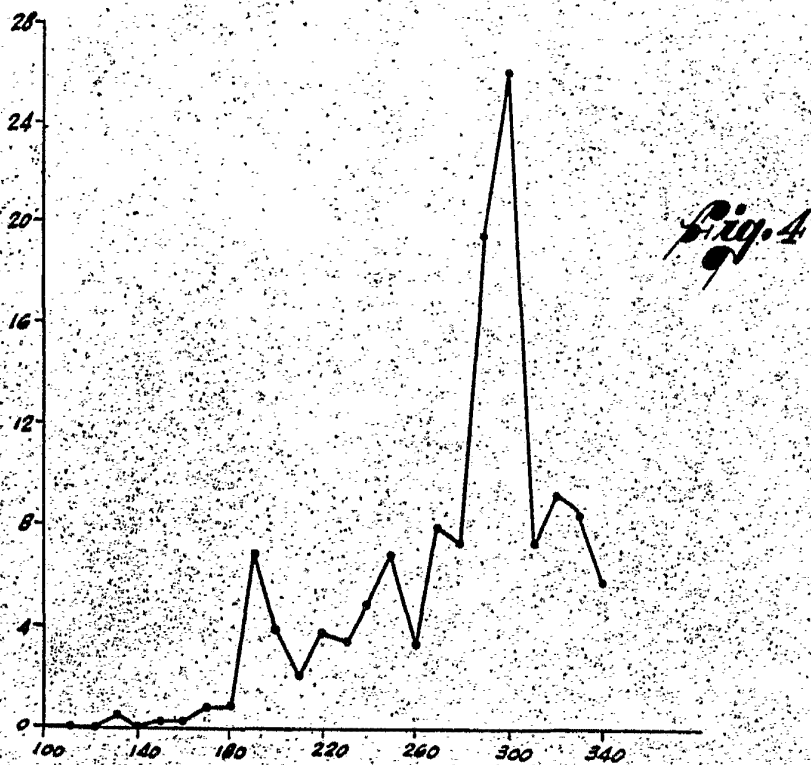
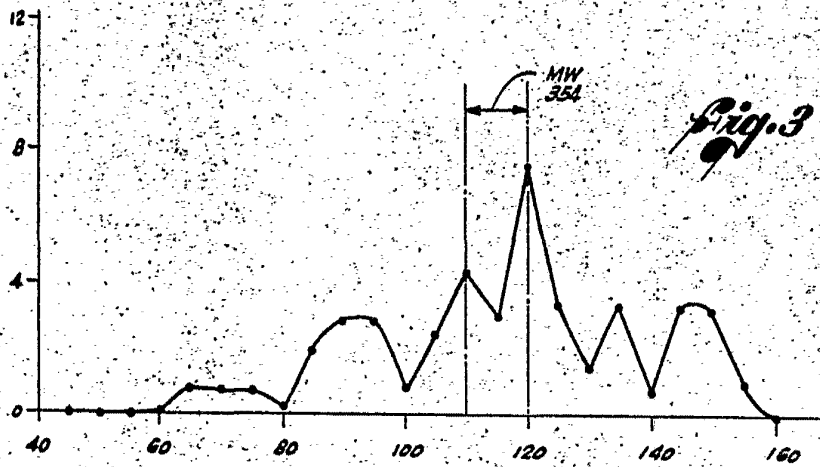


Escala variable

Madrid, 1 MAR. 1972
ALLERGAN PHARMACEUTICALS
P. FRANCISCO GARCIA CABREIZO
P. P.

[Signature]
Firma de: M.ª Dolores Jorquera

**POOR
QUALITY**



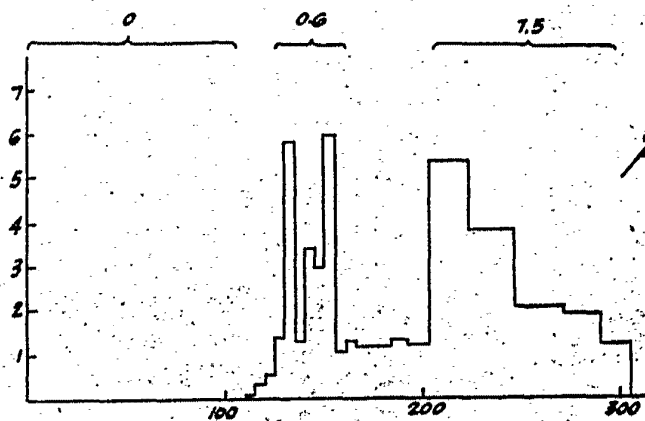
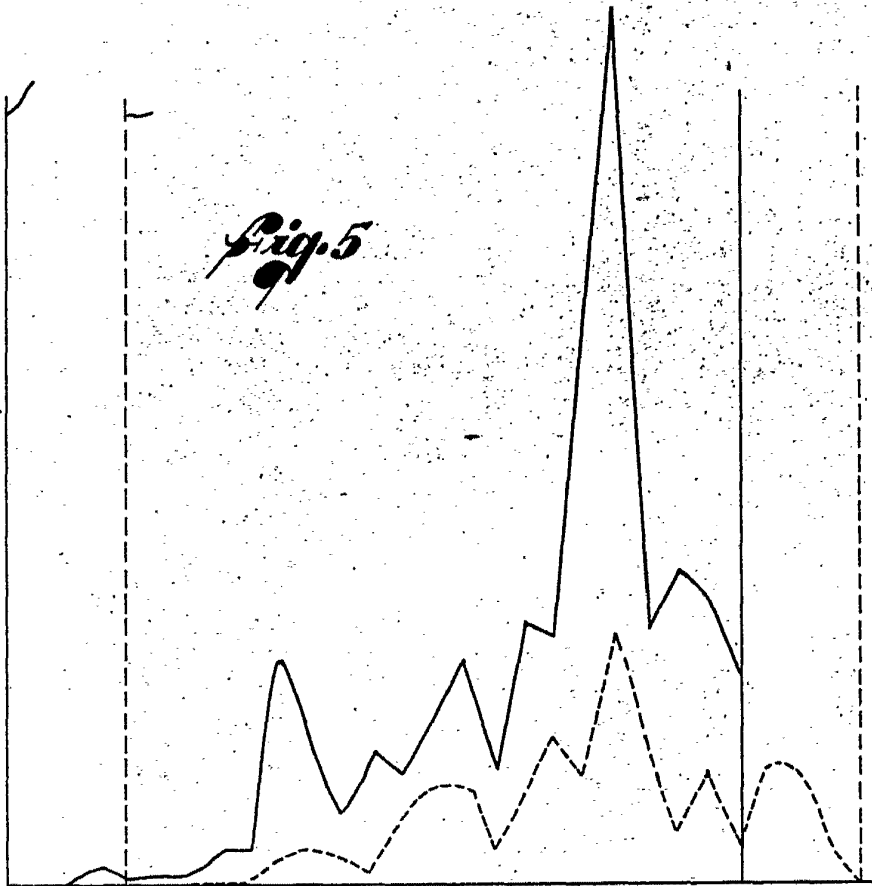
Escala variable

Madrid, 1 MAR. 1972
ALLERGAN PHARMACEUTICALS
P. P.

FRANCISCO GARCIA CABRERIZO
P. P.

Firmado: M.ª Dolores Jarquera

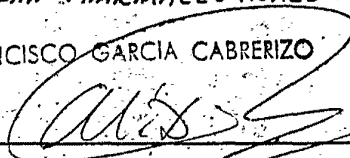
**POOR
QUALITY**



Escala variable

Madrid, 4 MAR. 1972
 ALLERGAN PHARMACEUTICALS
 P. P. FRANCISCO GARCIA CABRERIZO
 P. P.

Firmado: M.ª Dolores Jarque



POOR QUALITY