

4 1 3 5 8 3

Int. Cl.²: C07C 11/061.3



11 13

MEMORIA DESCRIPTIVA

que corresponde a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

por 20 AÑOS

en ESPAÑA

A favor de: ZAIDAN HOJIN BISEIBUTSU KAGAKU KENKYU KAI.

Entidad: Japonesa

Establecida en: N^o. 14-23, 3-chome, Kamiosaki, Shinagawa-ku, TOKYO (Japón).

Enunciado: "UN PROCESO PARA PREPARAR UN COMPUESTO SELECCIONADO DEL GRUPO CONSTITUIDO POR EL ACIDO N-(2,4-DI-HIDROXIBENZOIL)-4-AMINOSALICILICO".

Prioridad: De la Patente japonesa n^o 37385/72 de fecha 15 de abril de 1972.

...oOo...

413583



-2-

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN.-

- 5.- Esta invención se refiere al ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico y sus sales farmacéuticamente aceptables y no-tóxicas, que inhiben fuertemente la actividad enzimática de la decarboxilasa de histidina y la oxidasa de xantina. La invención se refiere además a un proceso para producir este compuesto, a los preparados farmacéuticos que contienen dichos -- compuestos como ingrediente activo y al uso farmacéuti- co de dichos preparados.
- 10.- Los inventores de la presente descubrieron e informaron según la solicitud de patente japonesa número 96778/71, que el ácido lecanórico, producido abundantemente por el hongo del género Pyricularia, posee una fuerte actividad inhibidora de la decarboxilasa de his- tidina una enzima que cataliza la conversión de histidi- na en histamina. No obstante, los inventores encontra- ron que el ácido lecanórico 4-O(2,4-dihidroxi-6-metil- benzoyl)-2-hidroxi-6-metil-benzoico, se hidrolizaba en los animales y su actividad anti-inflamatoria era mucho más débil que lo esperaban los inventores. Los - inventores sintetizaron el análogo estructural del áci- do lecanórico, intentando obtener un compuesto que mos- traba una fuerte inhibición de la decarboxilasa de la histidina in vitro y una fuerte actividad anti-inflama- toria in vivo. De esta forma, se descubrió el ácido N- (2,4-hididroxibenzoil)-4-aminosalicílico, el compuesto de esta invención, que nunca había sido descrito. Es-- tructuralmente se relaciona con el ácido lecanórico, pe- ro puede prepararse por síntesis química. Este compuesto
- 15.-
- 20.-
- 25.-
- 30.- inhibe la decarboxilasa de histidina, y es mucho más es-



table en los animales que el ácido lecanóricico. Además, tal como han descubierto los inventores, este compuesto se ha demostrado igualmente que tiene una fuerte actividad inhibidora frente a otra enzima la oxidasa de xantina.

5.-

En la técnica anterior, se han hecho varios intentos por preparar inhibidores metabólicos específicos que tuvieran aplicaciones quimioterapéuticas. El lenbogen et al. han descrito en la patente U.S. número 3.646.121 el uso del ácido 4-bromo-3-hidroxi hippúrico y las sales catiónicas del mismo como útiles para inhibir la formación de histamina en los mamíferos, inhibiendo la decarboxilasa de histidina. Del mismo modo, se sabe que la brocresina (4-bromo-3-hidroxi benziloxamina fosfato) es inhibidor de la decarboxilasa de la histidina.

10.-

15.-

En la Patente U.S. número 3.474.098 se ha descrito el allopurinol o sea la 4-hidroxi pirazol-(3,4-d)-pirimidina, como un agente terapéutico útil para inhibir la producción del ácido úrico en el ciclo catabólico de la purina, interfiriéndose en la actividad de la oxidasa de la xantina, pero se han informado de diversos efectos colaterales indeseables y, según el Physician's Desk Reference 1973, página 651-652, el fármaco es adecuado solo para aplicaciones limitadas.

20.-

25.-

OBJETOS DE LA INVENCION.-

En consecuencia, un objeto de esta invención es el de proporcionar un nuevo compuesto que tenga propiedades de inhibición enzimática in vivo.

Otro objeto de esta invención es el de propor-

30.-



cionar un nuevo compuesto útil para inhibir la actividad enzimática de la decarboxilasa de la histidina.

5.- Otro objeto de esta invención es el de proporcionar un nuevo compuesto útil para inhibir la actividad enzimática de la oxidasa de la xantina.

Un objeto adicional de esta invención es la de proporcionar un proceso para sintetizar el ácido N-(2-4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico.

10.- Otro objeto más de esta invención es el de proporcionar un nuevo preparado farmacéutico de los métodos para el uso del mismo.

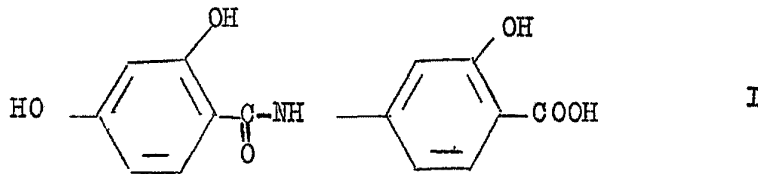
En el estudio de la especificación y de las reivindicaciones adjuntas, los entendidos en la materia captarán otros objetos y ventajas de la presente invención.

15.-

RESUMEN DE LA INVENCION.-

En pocas palabras, los objetos anteriormente citados y otros varios, se alcanzan en un aspecto de esta invención proporcionando un compuesto seleccionado del grupo formado por el ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico, con la fórmula:

20.-



25.-

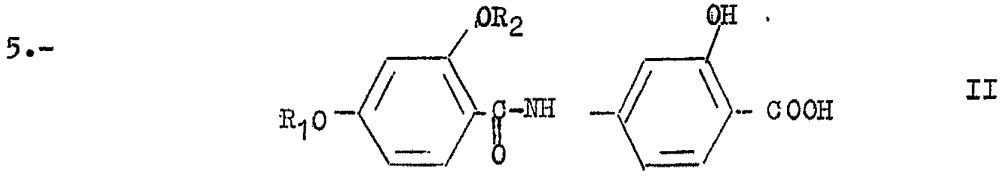
y las sales no-tóxicas y farmacéuticamente aceptables del mismo.

El compuesto de la Fórmula 1 puede encontrarse en forma enmascarada en la que uno o dos de los grupos hidroxilos presentes en la mitad 2,4-dihidroxibenzoilo ha sido enmascarado por un grupo enmascarador se-

30.-



leccionado de un grupo alcancilo inferior, un grupo -- aroilo inferior, un grupo carboalcoxilo inferior y un grupo carbobenzoxi, y que está representado por la fórmula:



10.- en la que R₁ es un grupo alcancilo inferior, un grupo carboalcoxilo inferior o un grupo carbobenzoxi, y R₂ es un átomo de hidrógeno, un grupo alcancilo inferior, un grupo aroilo, un grupo carboalcoxilo inferior o un grupo carbobenzoxi,

BREVE DESCRIPCION DE LOS DISEÑOS.-

15.- Los objetos anteriores y otros varios, aparecerán con más claridad para los entendidos en la materia por la siguiente discusión detallada, hecha con referencia a los diseños adjuntos, en los que:

20.- La figura 1ª es el espectro infrarrojo de la forma del ácido libre del ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico.

La figura 2ª es el espectro infrarrojo de la sal monosódica del mismo.

25.- La figura 3ª es el espectro infrarrojo de la sal monopotásica del mismo;

La figura 4ª es el espectro infrarrojo de la sal monocálcica del mismo, (C₁₄H₁₁O₆N₂).Ca;

La figura 5ª es el espectro infrarrojo de la sal dicálcica del mismo, (C₁₄H₁₁O₆N₂).Ca₂;

30.- La figura 6ª es el espectro de resonancia mag-



5.- nética nuclear de la forma de ácido libre del mismo, determinada con una radiación de 60 megaciclos en un disolvente de monóxido de azufre dimetilo radioactiva do con diuterio, con desviaciones químicas medidas a partir de una referencia de tetrametilsilano y mosttra do en la escala delta como partes por millón del cam po magnético total aplicado;

10.- La figura 7ª es el espectro de rescnancia mag nética nuclear de la sal monódica, determinada análo gamente con una radiación de 1000 Hertzios;

La figura 8ª es el espectro infrarrojo de la forma de ácido libre del ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil) -4-aminosalicílico; y la

15.- Figura 9ª es el espectro de resonancia mag nética nuclear de la forma de ácido libre del ácido N-(2,4-diacetoxi-benzoil)-4-aminosalicílico, determinado análogamente con una radiación de 60 megaciclos.

EXPOSICION DETALLADA.-

20.- En esta invención se describe el nuevo com-- puesto, el ácido N(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosali cílico, con la fórmula arriba indicada, y sus sales no tóxicas y farmacéuticamente aceptables, es decir, la - sal simple, mezclada o doblada con uno o más cationes - inorgánicos, por ejemplo, sodio, potasio, calcio, mag nesio y aluminio. El compuesto de la invención tiene - las siguientes propiedades y características.

25.- Propiedades Físicas:

La forma del ácido libre del presente compues to se obtiene como cristales de agujas de color blanco a marrón claro que se descomponen a 280-285°C. En cromato



5.- grafía de capa fina con gel de sílice utilizando gel de sílice D-C-Pertigplatten Kieselgel 60F254 (Merck, ALEMANIA) y un sistema disolvente de acetato de etilo: metanol: ácido acético al 2% (10:1:0,15), obteniéndose un solo punto que tiene un valor R_f de 0,35 con pulverización de color Azul fijo B.

Análisis elemental (como $C_{14}H_{11}O_6N$); Calculado: C 58,13%, H 3,83%, O 33,19%, N 4,84%. Hallado: -- C 58,54%, H₄ 2,25%, O 32,84%, N 4,66%. El peso molecular del compuesto es 289.

10.- Los espectros ultravioletas dieron crestas de absorción a 285 y 318 m,u en metanol ácido (0,01 N HCl - metanol); a 283 y 316 m,u en metanol; y a 22 y 288 m,u en metanol alcalino (0,01 N NaOH - metanol).

15.- Los espectros infrarrojos de la forma ácida, la sal sódica, la sal potásica y la sal cálcica se determinaron en tabletas KBr utilizando un espectrofotómetro infrarrojo Hitachi, modelo EPT-G2. En las figuras 1^a-5^a se muestran los espectros.

20.- Los espectros de resonancia magnética nuclear de la forma ácida y de la sal sódica se midieron según las técnicas convencionales utilizando un SPECTRUM Varian IIA-100. Los espectros de resonancia magnética nuclear se muestran en la figura 6^a y 7^a.

25.- Igualmente se determinaron el espectro infrarrojo y el espectro de resonancia magnética nuclear del ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico, y se muestran en las figuras 8^a y 9^a.

Preparación

El compuesto de esta invención es un producto

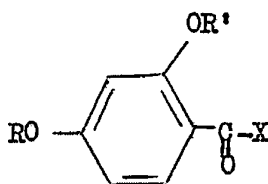
30.-

413583



-8-

de condensación entre el ácido β -resorcílico (ácido 2,4-dihidroxibenzóico) con la fórmula:



III

- 5.- en la que R y R' son cada una o bien hidrógeno o bien un grupo de enmascaramiento de hidroxilo, y X es un hidroxilo o un halógeno, y el ácido para-amino salicílico o las sales del mismo. Dado que esta reacción es fundamentalmente una condensación deshidratante entre
- 10.- un ácido carboxílico aromático y una amina aromática para producir el compuesto amida, son apropiados un cierto número de métodos y condiciones convencionales para la síntesis de la amida. Por ejemplo, el compuesto de la Fórmula I puede producirse por condensación
- 15.- de un haluro ácido, preferentemente el cloruro ácido o el bromuro ácido, del ácido β -resorcílico con el ácido p-aminosalicílico, o por condensación del ácido β -resorcílico con el ácido p-aminosalicílico, con la
- 20.- ayuda de los agentes de condensación de la amida, por ejemplo, la diclohexilo carbodiimida.
- 25.- La reacción se lleva a cabo preferentemente durante 30 minutos a 2 horas en un disolvente orgánico inerte. Los disolventes orgánicos inertes apropiados son disolventes orgánicos polares en los que los reactivos son solubles y no tienen efectos perjudiciales que afecten el curso de la reacción; estos disolventes son perfectamente conocidos en la técnica e incluyen sin limitarse a ellos, las cetonas, por ejemplo, la ace-
- 30.-



tona y los nitrilos, por ejemplo el acetónitrilo.

5.- La temperatura de reacción puede variar desde el punto de congelación de la mezcla de reacción al punto de ebullición del componente más volátil de la misma, pero debe encontrarse preferentemente a la temperatura ambiente o debajo de ella, por ejemplo de 0 a 25°C. Aunque pueden utilizarse presiones elevadas o reducidas mientras se mantenga la fase líquida, se prefiere la presión ambiente.

10.- Para obtener una alta producción de condensación y reducir las reacciones colaterales indeseadas, el ácido β -resorcílico se introduce preferentemente en la reacción de condensación con los grupos hidroxilos enmascarados en la forma de derivados acilo.

15.- Se comprenderá que el enmascaramiento de los grupos hidroxilo hará que el compuesto enmascarado sea menos hidrofílico; esto puede tenerse en cuenta tanto en la elección del disolvente de reacción como, si se desea, en la elección de un portador farmacéuticamente aceptable si el producto enmascarado debe utilizarse -

20.- directamente sin eliminar los grupos de enmascaramiento. La técnica conoce perfectamente los grupos apropiados de enmascaramiento hidroxilo que incluye, sin que esta numeración sea limitativa, los grupos que convierten el hidróxido libre en un éster o un éter, por ejemplo, por

25.- esterificación con un ácido carboxílico, el haluro del ácido carboxílico (por ejemplo, cloruro) el anhídrido - ácido carboxílico u otro éster; o con ácidos sulfónicos, cloruros sulfónicos, ácido sulfúrico o similares.

30.- Los grupos de enmascaramiento preferidos son

413583



- los ácidos, por ejemplo, el alcanóilo y el aroilo, y especialmente, el alcanóido inferior de 1-6 átomos de carbono, por ejemplo el acetilo y el benzoilo; el carboxilo inferior, de 1-6 átomos de carbono, por ejemplo el carbometoxi, y el caretoxi, y el grupo carbobenzoxi; entre los grupos preferidos de enmascaramiento se incluyen, sin que esta numeración sea limitativa, el acetilo, el benzoilo, el carbometoxi, el carboetoxi y el carbobenzoxi; el tritilo, el trimetilsililo; el tetrahidropirranilo u otro grupo protector convencional -
- 5.- que pueda disociarse del producto condensado sin hidrólisis simultánea del enlace amida recién formado. Estos grupos protectores o de enmascaramiento si existen en el material de partida, pueden eliminarse del producto acabado por las técnicas convencionales de hidrólisis suave, si así se desea. Igualmente, puede introducirse el ácido p-aminosalicílico en la reacción en una variedad de formas, por ejemplo como en las sales de los metales álcali o de metales alcalino-térreos, por ejemplo el amonio, el sodio, el potasio, el calcio y el magnesio. Estos pueden tener igualmente un grupo hidroxilo enmascarado, como ocurre en el ácido β -resorcílico; -
- 10.- además el grupo amino puede neutralizarse a opción con los ácidos inorgánicos, por ejemplo, el ácido clorhídrico y el ácido sulfúrico o con los ácidos orgánicos, por ejemplo el ácido acético. El producto formado por -
- 15.- la reacción de condensación puede aislarse de la mezcla de reacción por los métodos convencionales de aislamiento de amida, por ejemplo, precipitación del producto después de evaporación del disolvente de reacción
- 20.-
- 25.-
- 30.-



o por la adición de un exceso de agua. Si se desea, la forma de ácido libre del producto -1- puede convertirse, bien antes o bien después del aislamiento de la mezcla de reacción en sus sales con la adición de al menos un metal álcali, un metal alcalino-térreo o un cation de aluminio, farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en forma de un hidróxido, un carbonato, un bicarbonato o un óxido. Cualquiera de las diversas técnicas apropiadas para la formación de sales de los ácidos carboxílicos aromáticos puede emplearse para la formación de la sal de adición del ácido carboxílico.

5.-

10.-

Formación de la sal.

15.-

20.-

25.-

Los compuestos de esta invención incluyen tanto la forma de ácido libre como las sales de la misma con un catión orgánico o inorgánico. Aunque se prefieren las sales fisiológicamente aceptables, se comprenderá que pueden utilizarse las sales tóxicas para los procedimientos de aislamiento y/o purificación. Las sales pueden ser monobásicas o dibásicas y también simples o mezcladas, incluyen las sales del tipo carboxilato. Debido a la facilidad con que ocurre la formación de la sal, se comprenderá que el compuesto de esta invención es un agente quelante útil análogo a los compuestos descritos en la patente U.S. 3.514.481 de Gordon, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia.

30.-

Para preparar las sales de metal álcali, el compuesto ácido -1- se suspende en un disolvente miscible en agua, por ejemplo, metanol y/o acetona, añadiéndose gota a gota y con agitación una solución acuosa



- sa de compuesto metálico álcali, preferentemente en forma neutralizada como el hidróxido o el bicarbonato, en una proporción molar igual o ligeramente superior. Del mismo modo, se añade el compuesto de metal alcali-
- 5.- notérreo, preferentemente como un hidróxido o un bicar-
bonato, en una relación molar apropiada para producir la sal que contiene el metal alcalinotérreo en una proporción molar de la mitad o igual según se desea en relación con el compuesto ácido -1-.
- 10.- El compuesto de esta invención forma también sales de aluminio, por ejemplo, la sal de aluminio alcalina conteniendo una relación molar de la mitad entre el aluminio y el ácido -1- y la sal de aluminio neutra conteniendo una relación molar de una tercera parte entre el aluminio ácido -1-. A la solución del com-
- 15.- puesto ácido -1- en alcohol o alcohol acuoso, se añade, bajo agitación, un compuesto de aluminio formador de sal, por ejemplo, hidróxido de aluminio y solución de alcoxide de aluminio en la proporción molar deseada en relación con el ácido -1- para producir el tipo deseado de sal de aluminio.
- 20.- También pueden producirse sales complejas del compuesto ácido -1- con aluminio y un metal álcali o un metal alcalinotérreo, en la que el ácido -1- en agua o en alcohol acuoso se añade, a la temperatura deseada, tanto con la cantidad deseada de la sal de aluminio, preferentemente sal alcalina de aluminio, del áci-
- 25.- do -1- como con el metal álcali (o metal alcalinotérreo) en forma de hidróxido u óxido. De igual manera, también pueden producirse sales complejas mezclando la
- 30.-



sal de aluminio, preferentemente una sal alcalina de aluminio, del compuesto -1- con una sal de metal álcali (o metal alcalinotérreo) del compuesto -1-.

Propiedades Farmacéuticas

- 5.- 1. Toxicidad aguda
- Se determinó la toxicidad aguda en administración oral, intraperitoneal (i.p.) e intravenosa (i.v.). El valor LD50 de la forma ácida, es decir, la dosis simple en inyección que mataba el 50% de los --
- 10.- animales de prueba, variaba de 900 a 1010 mg/kg intraperitonealmente, según las especies de los animales, y es superior a 6000 mg/kg oralmente en los ratones. - La sal sódica se muestra menos tóxica que la forma ácida, siendo el valor LD50 de 1660 mg/kg intraperitonealmente en los ratones. Una determinación similar con el
- 15.- compuesto en la forma enmascarada de la fórmula II, es decir el ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico y el ácido N-(2,4-dicarboetoxioxibenzoil)-4-
- 20.- aminosalicílico, no produjo ninguna muerte en ratones y ratas a la dosis de 1000 mg/kg por vía intraperitoneal. En la tabla I se dan los resultados de la prueba.
- 25.-

.../

-14413583



T A B L A I

	Animal	Vía de administración.	LD ₅₀ mg/kg	LD ₀ mg/kg
Fórmula I	Ratones	i.p.	1010	800
(Forma ácida)	Ratones	Oral	6000	5000
	Ratas	i.p.	900	800
	Conejos	i.p.	900	800
Fórmula I	Ratones	i.p.	1660	1200
(Sal sódica)	Ratones	i.v.	600	480
Fórmula II				
(Acido N-(2,4-di acetoxibenzoil) -4- aminosalicílico	Ratones	i.p.	-	>1000
	Ratas	i.p.	-	>1000
Fórmula II	Ratones	i.p.	-	>1000
(Acido-N(2,4-di- carboetoxioxiben- zoil)-4-aminosalicí- lico)	Ratas	i.p.	-	>1000

2. Toxicidad general

Se examinaron los efectos en el porcentaje de cría y el desarrollo de los fetos, utilizando ocho grupos de ratas hembras, de Wistar, (10 ratas en cada sección del experimento), con un peso medio de 180 kg). El compuesto de la fórmula I en forma ácida se administró oralmente e intraperitonealmente a cada grupo en dosis diarias de 3,1, 12,5, 50 y 200 mg/kg, respectivamente durante 7 días consecutivos, comenzando a partir del octavo día de embarazo. Se comprobó que tanto el porcentaje de cría como el peso de los fetos eran normales y no se observó ningún nacimiento con malformación en ninguna de las secciones experimenta-



les. Tampoco se halló carcinogenicidad en las ratas a las que se administró oralmente, durante un año, - dosis diarias de 50, 100, 200 mg/kg de la sal sódica. En consecuencia el compuesto de esta invención tiene

5.- unas características de toxicidad general baja.

3. Inhibición de la Descarboxilasa de la Histidina

El compuesto de esta invención es un fuerte inhibidor de la descarboxilasa de la histidina. El porcentaje de inhibición se determinó en un sistema de incubación de tubo de ensayo que incluía $2,5 \times 10^{-5} M$ l-histidina $2^{-14}C$ (0,05 uCi), $3,5 \times 10^{-5} M$ piridoxal-fosfato, 0,1 ml. de descarboxilasa de histidina, un preparado enzimático crudo obtenido de ratas fetales conteniendo un mg. de proteína/ml), y 0,1 ml de tampón fosfato 0,67 M con pH 6,8, a la que se añadió el compuesto de ensayo en solución acuosa llevándose el volumen - total hasta un ml. con tampón. Después de dos horas - de incubación a 37°C, la histamina $2^{-14}C$ formada se recogió en una resina de intercambio de iones (Amberlite CG-50, tipo amoniaco) de donde, después de lavado con agua, se liberó la histamina en solución de amoniaco - acuoso 1N, midiéndose la radiactividad.

10.-

15.-

20.-

Los valores LD_{50} , la cantidad de inhibidor - que produce un 50% de inhibición de la actividad enzimática en este sistema de prueba, son de $5 \times 10^{-8} M$ para - la forma ácida 1, $1,5 \times 10^{-7} M$ para el ácido N(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico y $2,8 \times 10^{-7} M$ para el ácido N-(2,4-dicarboetoxi-oxibenzoil)-4-aminosalicílico.

25.-

4. Inhibición de la oxidasa de la xantina.

El compuesto de esta invención se caracteriza

30.-



igualmente por una fuerte inhibición de la oxidasa de la xantina, La inhibición de la oxidasa de la xantina se determinó por una modificación del método de H.M. - Kalcker descrito en J. Biol. Chem. 169: 429 (1947). La mezcla de incubación contiene $3,7 \times 10^{-5}M$ de hipoxantina, $5 \times 10^{-3}M$ de tampón de fosfato con pH 7,4, 0,1 ml. de solución de oxidasa de xantina, conteniendo 1 mg. de proteína o 0,0005 unidades de la enzima, y el compuesto en ensayo, con un volumen total de 3 ml. La solución enzimática se tomó de una enzima hepática de rata, preparada por fraccionamiento centrífugo, o bien por una enzima de leche obtenida comercialmente. Una unidad de la enzima se define como la que forma un micromol de ácido úrico por minuto a partir de xantina a $25^{\circ}C$, con pH de 7,4. La incubación se realizó a $25^{\circ}C$ y se determinó la cantidad de ácido úrico así formado a intervalos de un minuto durante cinco minutos, midiendo la absorción específica del ácido úrico a 290 m,u. El porcentaje de inhibición (en tanto por ciento) se obtuvo por el cálculo siguiente:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{C - S}{C} \times 100$$

donde

S= aumento en la densidad óptica a 290 m,u de 1 a 5 minutos en presencia del compuesto de prueba.

C= El valor de la densidad óptica en ausencia del compuesto de prueba. En el sistema anterior, la concentración de la forma ácida requerida para inhibir un 50% de la actividad enzimática es de $3,5 \times 10^{-6}M$.

Para la forma ácida -l-, $4,0 \times 10^{-5}M$ para el



ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico y $5,6 \times 10^{-5}M$ para el ácido N-(2,4-dicarboetoxioxibenzoil)-4-aminosalicílico.

5. Inhibición del edema inducido por la Carra-
geenina en las ratas

5.-

Se administró a varios grupos de ratas Wis-
tar con un peso medio corporal de 165 gm el compuesto
de la fórmula I, o II, en dosis de 3,1, 12, 5 ó 50 mg/
kg por vía oral o intraperitoneal (i.p.). Cada grupo
experimental estaba formado por 5 animales. Una hora -
después de administrar el fármaco, se inyectó por vía
subcutánea en planta de la pata trasera izquierda mi-
diéndose el volumen de hinchazón del edema inducido de

10.-

15.-

este modo 1,3 y 5 horas después comparándose con un -
grupo de control que no recibió fármaco anti-inflama-
torio y con grupos que recibieron aspirina y fenilbu-
tazona antes de la inoculación en la planta de la pa-
ta.

20.-

Los resultados, expresados en términos de los
valores ED_{30} , es decir, una dosis efectiva del fárma-
co para reducir el volumen del edema en un 30% en re-
lación con el grupo testigo, se dan en la tabla 2, y
muestran que el compuesto de esta invención tiene una -
fuerte actividad anti-inflamatoria.

25.-

30.-

-18- 413583



T A B L A II

<u>Fármaco</u>	<u>Vía</u>	<u>ED₃₀ (mg/kg)</u>
Fórmula I	Oral	20
(forma ácida)	i.p.	4,5
Fórmula II	Oral	18
(ácido N-(2,4-diacetoxibenzoyl)-4-amino-salicílico)	i.p.	7
Fórmula II	Oral	18
(ácido N-(2,4-dicarbome toxibenzoyl)-4-amino salicílico)	i.p.	8
Fenilbutazona	Oral	20
	i.p.	10
Aspirina	i.p.	48

6. Actividad antipirética en los conejos con pirexia inducida

- Se inyectó a conejos japoneses machos, blancos, - comunes, de laboratorio, con 2,0 a 3,0 kg. de peso corporal, y en la vena de la oreja 20 ug/kg de un inductor de pirexia TTG nº 2, un preparado de polisacárido purificado obtenido de la Pseudomonas aeruginosas (vendido por Fujisawa Pharmaceutical Co., Japón), controlándose la temperatura del cuerpo con un termómetro rectal del tipo de termistor. Antes de la inyección con TTG, cuatro conejos de cada grupo experimental -
- 5.- recibieron el fármaco en ensayo. El grupo 1 recibió 100 mg/kg intraperitonealmente (i.p.) una hora antes de la inyección,
- 10.-

mientras que el grupo 2 recibió 200 mg/kg por vía oral 3 horas antes de la inyección. Se empleó la forma ácida del compuesto de la fórmula I. Un tercer grupo recibió por vía intraperitoneal 100 mg/kg de un potente antipirético, aminopirina, una hora antes de la inyección, mientras que un grupo testigo recibió solo el inductor de la piroxia. Los resultados que se muestran en la Tabla III indican que el compuesto de esta invención tiene actividad antipirética.

T A B L A III

	Elevación en la temperatura del organismo (°C)				
	<u>1 h.</u>	<u>2 hrs.</u>	<u>3 hrs.</u>	<u>4hrs.</u>	<u>5hrs.</u>
Control	1,0	1,1	1,8	1,6	1,3
Grupo 1 (100 mg/kg, i.p)	0,8	0,6	1,0	1,0	0,4
Grupo 2 (200 mg/kg. oral)	0,7	0,8	1,1	0,4	0,3
Aminopirina (100 mg/kg i.p.)	0,8	0,4	0,4	0,3	0,1

7. Actividad analgésica en los ratones

Ratones machos de la cepa DDY, con un peso corporal medio de 20 g, fueron divididos en cuatro grupos de 10 animales cada uno, a los que se administró intraperitonealmente (i.p.) o subcutáneamente (s.c.) la sal sódica del compuesto de la fórmula I o aminopirina, en solución salina. La dosis fue de 200, 50 ó 12,5 mg/kg. Treinta minutos más tarde, se inyectaron por vía intraperitoneal 0,2 ml. por 20 g. de peso del cuerpo de solución de ácido acético al 0,7% de salina, y se contaron el número de movimientos característicos

5.-

10.-



de encogimiento durante 20 minutos, comparándolos con un grupo testigo que no recibió analgésico antes de la inyección de la solución de ácido acético.

T A B L A IV

5.-

<u>Fármaco</u>		<u>Recuento de encogimiento</u>		
		<u>200 mg/kg</u>	<u>50 mg/kg</u>	<u>12,5 mg/kg</u> <u>Testigos</u>
Fórmula I	i.p. 14	20	33	
(Sal sódica)	s.c. 15	29	41	55
Fórmula II	i.p. 11	24	38	
(ácido N-(2,4-Diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico)	oral 15	31	39	
Fórmula II	i.p. 13	28	38	
(N-(2,4-dietoxioxi-benzoil-4-amino-salicílico)	oral 15	33	40	
Aminopirina	i.p. 1	7	20	
	s.c. 1	15	35	

8. Efecto en la respuesta cutánea de la Tuberculina

Cobayos blancos hembras pesando 350-400 g. cada uno, fueron sensibilizados inyectándoles en el músculo del muslo de cada pata trasera 0,25 ml. de una suspensión homogénea de células de Mycobacterium tuberculosis, cepa Aoyama B. La suspensión se preparó macerando totalmente células matadas en seco sumergidas en parafina líquida utilizando un mortero de ágata y ajustando a una concentración de 0,1 mg. de célula seca/ml.

10.-

Seis semanas después de sensibilización, se deter-

15.-



5.- minaron las respuestas sanguíneas por inyección subcutánea con 0,1 u,g de PPD standard (derivado proteínico purificado), y los animales que mostraban un halo no inferior a 14 mm. de diámetro, en los que el diámetro medio fue de 18 mm., se emplearon para el experimento sub-siguiente.

10.- A los animales sensibilizados se les suministró subcutáneamente la forma ácida del compuesto de la fórmula I en una solución salina de pH 7,4 en dosis de 100, 50 y 20 mg/kg (seis animales en cada grupo) una, cuatro, siete y diez horas antes de la inyección subcutánea de PPD. Durante el periodo de 24 horas inmediatamente posterior, se administró el fármaco ad libitum a los animales con el agua de la bebida en la que las concentraciones del fármaco eran de 1000, 500 y 250 mg/ml. para cada grupo respectivo.

15.- Se examinó el eritema /E) y el endurecimiento (1) en la zona inyectada a las 24, 48 y 72 horas después de la inyección de PPD.

20.- Los resultados tabulados en la Tabla 5 indican que el compuesto de la fórmula suprimía la respuesta cutánea a la tuberculina.

25.-

.../

413583



T A B L A V

Dosis mg/kg	Peso medio (g)	Tamaño del halo (mm) a las:					
		24 hrs.		48 hrs.		72 hrs.	
		E	I	E	I	E	I
100	826	9,8x9,8	9,3x9,3	14,3x14,3	12,8x12,8	13,2x13,2	11,6x11,6
50	843	14,0x14,0	13,7x13,7	16,5x16,5	15,5x15,5	14,2x14,2	13,2x11,5
25	763	14,7x14,7	14,0x14,0	16,5x16,5	15,7x15,7	14,3x14,5	14,0x14,0
0	783	17,3x17,3	16,7x16,8	16,2x16,3	15,7x15,7	15,3x15,5	14,5x14,5

9. Efecto en el shock anafiláctico del ratón

Se sensibilizaron ratones de la cepa LDY por inyección subcutánea de una mezcla de 0,1 ml. (100 u,g) de albúmina de huevo (Nutritional Biochemical Cor., U. S.A., 5 veces cristalizada) y 0,1 ml. de adyuvante completo de Freund (Difco Co. U.S.A.) en salina. Los ratones fueron utilizados para la prueba tres meses después. Los animales sensibilizados fueron divididos en tres grupos de cuatro animales cada uno, a los que se administró subcutáneamente la fórmula ácida del compuesto de la fórmula I varias veces antes de que el ataque con antígeno provocara el shock anafiláctico. El grupo I recibió 100 mg/kg 19 horas antes y 50 mg/kg 9, 4 y 1 horas antes del ataque. El grupo 2 recibió 100 mg/kg 9 horas antes y 50 mg/kg 4 y 1 horas antes del ataque. El grupo 3 era grupo testigo que solamente recibió la so-



lución salina.

Después de ataque por inyección intravenosa de 100 ug de albúmina de huevo como solución en salina, todos los animales del grupo de control falleció por shock a los 20-25 minutos. Todos los casos, en los grupos que recibieron el fármaco, el tiempo de aparición de los síntomas del shock se retrasó mucho y dos animales del grupo 1 y un animal del grupo 2 sobrevivieron.

En la Tabla VI se resumen los resultados de la prueba.

T A B L A VI

	<u>Ratón 1</u>	<u>Ratón 2</u>	<u>Ratón 3</u>	<u>Ratón 4</u>
<u>Grupo 1</u> , tiempo en que aparecieron los síntomas	15	20	Sobrevivió	Sobrevivió
Tiempo en que falleció	25	35		
<u>Grupo 2</u> , tiempo en que aparecieron los síntomas.	10	20	15	Sobrevivió
Tiempo en que falleció	30	40	45	
<u>Grupo 3</u> , Tiempo en que aparecieron los síntomas	5	3	5	3
Tiempo en que falleció	20	20	25	25

(minutos después de la inducción)

10. Efecto en la hiperuricacidemia en las ratas

El efecto del compuesto de esta invención en la formación de ácido úrico se examinó por el método de W.G. Johnson, B. Stavric y A. Chartrand descrito en Proc. Soc. Expt. Biol, Med.

15.- 13:81 (1969). Se inyectó a ratas Wistar con un peso de 310-330 g.



ácido alantoxánico y ácido úrico según el procedimiento allí descrito para provocar la hiperuricacidemia. El compuesto se administró en dosis de 30 mg/kg intramuscularmente o de 60 mg/kg. oralmente. Los niveles séricos del ácido úrico se determinaron colorimétricamente a las 3, 5, 7, 10 y 24 horas -

5.- después de administración del fármaco.

Los resultados que se muestran en la tabla VII como valor medio para los 4 animales de cada grupo, indican que el compuesto de esta invención disminuye marcadamente el nivel de ácido úrico en la sangre, suprimiendo la formación de ácido -

10.- úrico a partir de la oxidación de la xantina.

T A B L A VII

Vía y dosificación	Nivel de ácido úrico (ug/ml) a las:					
	0 hrs.	3 hrs.	5 hrs.	7 hrs.	10 hrs.	24 hrs.
Testigos	95,3	187,1	216,4	240,3	223,1	60,8
Fórmula I (sal sódica)						
I.m. 30 mg/kg	97,8	151,0	160,1	172,5	156,3	48,2
Oral						
60 mg/kg	90,3	154,6	170,9	177,2	156,8	47,3
Fórmula II (Acido N-2(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico)						
I.m.	95,8	154,0	161,5	174,3	158,3	50,1
Vía oral 60 mg/kg	97,5	152,3	162,2	170,6	154,2	46,9



Utilidad farmacéutica

Debido a su actividad inhibidora de las enzimas, los compuestos de esta invención son útiles como agentes inhibidores de la decarboxilasa de la histidina y/o la oxidasa de la xantina en medicina humana y veterinaria. Estos compuestos son útiles en el tratamiento de diversas enfermedades y alteraciones en las que el exceso de histamina o de ácido úrico puede desempeñar un papel determinante. Estas enfermedades y trastornos incluyen, aunque se limitase a ello, los diversos tipos de inflamación y dolor, piroxia, enfermedades alérgicas tales como el asma y el prurito o erupción, las enfermedades dermatológicas, la mastocitosis, la hiperacidez, el reumatismo, la artritis y las hiperuricacidemias tales como las causadas por la gota y los cálculos biliares. Además de su uso in vitro, pueden emplearse, por ejemplo, en la terapia tópica, entérica o parenteral de inflamaciones en forma aproximadamente similar a los compuestos ya conocidos, por ejemplo, la fenilbutazona, el ácido mefenámico, la bucoloma.

Los compuestos de esta invención pueden emplearse en mezcla con excipientes convencionales, es decir, con sustancias portadoras, orgánicas o inorgánicas, farmacéuticamente aceptables y adecuadas para aplicación parenteral, entérica o tópica que no reaccione de forma negativa con los compuestos activos. Entre los portadores aceptables, farmacéuticamente adecuados, se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, el agua, las soluciones de sales, los aceites vegetales, los glicoles de polietileno, la gelatina, la lactosa, la amilosa, el estereato de

30.-



magnesio, el talco, el ácido silícico, la parafina --
 viscosa, el aceite perfumado, los monoglicéridos y di-
 glicéridos de ácidos grasos, los ésteres de ácidos gra-
 sos del pentaeritritol, la metil-celulosa hidróxi, la
 5.- pirrolidona polivinilo, etc. Los preparados farmacéuti-
 cos pueden esterilizarse y, si se desea, mezclarse con
 agentes auxiliares, por ejemplo, lubricantes, preserva-
 10.- tivos, estabilizadores, aceites humectantes, emulsio-
 nantes, sales para influir la presión osmótica, tampo-
 nes, colorantes, sustancias aromáticas y/o para impar-
 tir sabor, etc., siempre que no reaccionan negativamen-
 te con los compuestos activos.

Para aplicación parenteral, son particularmen-
 te adecuadas las soluciones, preferentemente aceitosas,
 15.- por ejemplo, el aceite de cacahuete, el aceite de oliva
 y el aceite de sésamo, o las soluciones acuosas, así -
 como las suspensiones, emulsiones o implantaciones, in-
 cluyendo los supositorios. Las ampollas son también do-
 sis unitarias convenientes.

Para aplicación entérica son particularmente
 20.- apropiadas las tabletas, grageas o cápsulas con porta-
 dor o aglutinante de talco y/o hidrato de carbono o si-
 milar, siendo preferentemente el portador uno o varios
 de los productos siguientes, lactosa, almidón de maiz,
 25.- almidón de patata, gelatina, agar, pectina, talco, car-
 bonato cálcico carbonato sódico. Puede utilizarse un -
 jarabe, un elixir, o similar siempre que se emplee un -
 vehículo endulzador. Pueden formularse composiciones de
 liberación retardada, incluyendo aquellas en las que el
 compuesto activo queda protegido con revestimientos di-
 30.-



ferencialmente degradable, así como composiciones, en las que el portador o el diluyente mismo incluye un material de retardo del tiempo, por ejemplo, el monoestereato de glicerilo o diestereato de glicerilos solos o con cera.

5.-

En general, los compuestos de esta invención se suelen presentar en forma de dosis unitaria comprendiendo 1-2500 mg de un portador farmacéutico por dosis unitaria, siendo la cantidad de gente activo de la invención por dosis unitarias de aproximadamente 50 a 250 mg.

10.-

Para aplicación tópica, se emplean como formas no-pulverizables, viscosas o semisólidas o sólidas, incluyendo un portador apto para la aplicación tópica con una viscosidad dinámica preferentemente superior a la del agua. Entre las formulaciones apropiadas se incluyen, aunque sin limitarse a ello, las soluciones, suspensiones, emulsiones, cremas, pomadas, polvos, linimentos, ungüentos, aerosoles, etc., que, si así se desea, pueden esterilizarse o mezclarse con agentes auxiliares, por ejemplo, preservativos, estabilizadores, agentes humectantes, tampones o sales para influir en la presión osmótica, etc., Para aplicación tópica, son también adecuados los preparados de aerosol pulverizable en los que el ingrediente activo, preferentemente en combinación con un material portador inerte sólido o líquido, se envasa en un frasco de agitación en una mezcla con un impulsor volátil y a presión, generalmente gaseoso, por ejemplo un freón. Por lo general, los compuestos activos de la invención se incorporan a las formulaciones

15.-

20.-

25.-

30.-



tópicas en una concentración de aproximadamente 0,1-5 por ciento del peso.

5.- Los compuestos de esta invención se administran generalmente a los animales, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, los mamíferos, humanos, ganado, animales domésticos, animales de laboratorio y aves.

10.- Una dosis diaria anti-inflamatoria efectiva del compuesto activo administrado oralmente a los humanos comprende de 1 a 100, generalmente de 2 a 5 y preferentemente de 2 a 25 mg/kg de peso corporal, junto con un 1 - 5000 mg. de portador farmacéuticamente aceptable. La dosis puede administrarse separadamente o en dosis divididas durante el día.

15.- Se prefiere la administración oral, siendo los compuestos de esta invención particularmente valiosos en el tratamiento de las personas afectadas de inflamación y dolor, pirexia y enfermedades alérgicas tales como el asma y la urticaria, las enfermedades dermatológicas, la mastocitosis, la hiperacidez, el reumatismo, la artritis y la hiperuricacidemia, tales como
20.- la causada por la gota y las piedras o cálculos biliares.

A este respecto, pueden emplearse en forma fundamentalmente similar a la del compuesto conocido: por ejemplo fenilbutazona, ácido mefenámico, bucoloma.

25.- Se comprenderá que las cantidades realmente preferidas de compuestos activos utilizadas variarán según el compuesto específico que se utilice, las composiciones particulares formuladas, el modo de aplicación y el lugar particular del organismo que se trata. Los entendidos en la técnica deberán tener en cuenta los mu



chos factores que modifican las acciones de los fármacos, por ejemplo, la edad, el peso corporal, el sexo, la dieta, el momento de la administración, la vía de la administración, la velocidad o porcentaje de excreción, las combinaciones medicamentosas, las sensibilidades de reacción y la gravedad de la enfermedad particular. Los técnicos en esta materia podrán determinar los porcentajes óptimos de aplicación para una serie -

5.-

10.-

Además del uso de estos compuestos para administración a animales, pueden emplearse en mezclas con portadores, germicidas, fungicidas o jabones, etc., para uso como soluciones antisépticas y similares, particularmente en los procedimientos de limpieza de los hospitales.

15.-

Sin ninguna elaboración ulterior creemos que cualquier experto en la materia, podrá utilizando la -- descripción anterior, utilizar esta invención en toda su extensión. Las realizaciones preferidas siguientes, por consiguiente, deberán considerarse solo como meramente ilustrativas y no limitativas del resto de la exposición de ningún modo. En los ejemplos que siguen, las temperaturas se indican no corregidas en °Celsius; a menos que se indique de otro modo, las partes y porcentajes son en peso. Los valores obtenidos en los análisis elementales se encuentran dentro de los límites de error adeptados comúnmente.

20.-

25.-

30.-



EJEMPLO 1

Se disolvieron ácido β -resorcílico (319 mg) y ácido paraaminosalicílico (313 mg) en 30 ml. de acetonitrilo, a lo que se añadió carbodiimida dicitclohexilo (437 mg) con agitación a la temperatura ambiente. Después de incubación durante una hora bajo agitación continuada, se filtró el precipitado de la diclohexilúrea y se enjuagó una vez con 20 ml. de acetona caliente. La solución combinada de filtrado y enjuague se evaporó a presión reducida, produciendo 713 mg. de polvo amarillo claro seco. Este polvo fue sometido a purificación por medio de cromatografía de columna de gel de sílice (Mallinckrodt Co. U.S.A.) utilizando un sistema de revelado de acetato etílico y etanol (10:1). Se obtuvieron 50 mg. de cristales en aguja de ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico, punto de fusión - 280-285°C, con descomposición, dando una producción del 8,3 %.

EJEMPLO 2

1) Preparación del ácido mono-carbometoxi- β -resorcílico.

Se disolvió ácido β -resorcílico (61 grs) en hidróxido-2N-sódico (660 ml) en un recipiente de reacción equipado con agitador y con una unidad de enfriamiento. Bajo fuerte agitación y en frío, se añadió carbonato de monocloro metilo (61 grs.) y se continuó la agitación hasta que desapareció el olor a cloro. El precipitado así formado se filtró y la torta del filtro se volvió a disolver en agua (460 ml) a 30°C. Acidificando la solución con ácido clorhídrico diluido, surgió



un precipitado de cristales blancos que se recogieron por filtración en vacío. Se obtuvieron cristales secos (70 g) con un punto de fusión de 141-142°C.

2) Preparación del ácido dicarbometoxi- β -resorcílico

5.-

Se mezcló ácido mono-carbometoxi- β -resorcílico con benceno (1130 g) y a continuación con dime-

tilamina (77 g) hasta conseguir una solución uniforme. Después de enfriamiento se añadió carbonato monocloro-

10.-

metílico (33g) en pequeñas porciones bajo fuerte agitación hasta que la solución se convirtió en una masa -

pastosa. Después de continuar la reacción durante 3,5 horas, se añadió ácido 2N-clorhídrico en exceso, produciendo un precipitado que se recogió por filtración

15.-

en vacío, se enjuagó con benceno frío y a continuación se enjuagó con éter de petróleo.

Después de recrystalizar a partir de una solución acuosa al 60% se obtuvieron cristales blancos (69,3 g) con un punto de fusión de 155-157°C.

3) Preparación del cloruro de dicarbometoxi- β -resorcinoilo

20.-

Se disolvió ácido dicarbometoxi- β -resorcílico (69 g) en cloruro de tionilo (700 ml) mezclando

a la temperatura del ambiente. Después de tener lugar la reacción, observado por la formación de una solución

25.-

uniforme, se condensó la solución a 40°C. bajo presión

reducida para eliminar el cloruro de tionilo en exceso. Se obtuvo un polvo blanco (73,7 g con 86-87°C de punto

de fusión.

4) Preparación del ácido N-(2,4-dicarbometo-

30.-



xibenzoil)-4-aminosalicílico:

Se disolvió ácido l-aminosalicílico (39 g) en hidróxido IN-sódico (400 ml) y acetona (320 g) en un recipiente de reacción dotado de un mezclador y -

5.- una unidad de refrigeración. Después de enfriar hasta 5°C, se añadió lentamente cloruro de dicarbometoxi β -resorcinoilo (69 g) en una solución de acetona anhidrica (320 g), con agitación continuada durante una hora. La reacción se continuó durante otra hora a 5°C,

10.- después de lo cual se neutralizó la mezcla reactante con ácido clorhídrico diluido y se diluyó en agua -- (4000 ml). Después de retirar por filtrado el precipitado así tomado, y de secar el precipitado, se obtuvo un polvo (83, g). Recristalizado a partir de acetona -

15.- y agua, se obtuvieron cristales similares a agujas ligeramente amarillentos (70 g) de ácido N-(2,4-dicarbometoxioxibenzoil)-4-aminosalicílico, con un punto de fusión de 230-240°C.

EJEMPLO 3

20.- El polvo (68 g) del ácido N-(2,4-dicarbometoxioxibenzoil)-4-aminosalicílico del Ejemplo 2 se disolvió en solución de hidróxido de sodio 2N (500 ml). Después de dejar estar durante 2 horas a la temperatura -

25.- del ambiente, se neutralizó la solución con ácido clorhídrico, produciendo un precipitado marrón claro (53,5 g). Este precipitado se disolvió de nuevo en acetona - acuosa al 50% (250 ml) con calentamiento suave, dejando estar en la oscuridad primero a temperatura del ambiente durante varias horas y a continuación en frío -

30.- (5°C) durante 12 horas, obteniéndose ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico como cristales en agujas



de color de blanco a marrón claro (40,1 g). El producto se descompone a 280-285°C.

EJEMPLO 4

1) Preparación del ácido diacetil-β-resorcí-
cílico

5.-

Se añadió a acetil cloruro (70 ml) gota a gota a un recipiente de reacción conteniendo ácido β-resorcílico (40 g), acetona (400 ml) y trimetilamina (80 ml). Se filtró el precipitado de hidrocloruro de trietilamina así formado, y se evaporó el filtrado en un condensado aceitoso al que se añadió entonces una pequeña cantidad de agua con agitación durante varios minutos. La mezcla se dejó estar durante una noche para enfriar. El producto precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua y se recristalizó con etanol y agua. Se obtuvieron cristales prismáticos blancos de ácido diacetil-β-resorcílico (27,4 g), punto de fusión: 136-137°C.

10.-

15.-

2) Preparación del cloruro de diacetil-β-resorcinoilo

20.-

Se añadió ácido diacetil β-resorcílico (25 g) a cloruro de tionilo (30 ml) a la temperatura del ambiente. Una vez que se puso uniforme la solución, se evaporó a 40°C bajo presión reducida para eliminar el exceso de cloruro de tionilo. Con ello se obtuvo un producto aceitoso del cloruro diacetil-β-resorcinoilo (28 g).

25.-

3) Preparación del ácido N-(2,4-diacetilbenzoil)-4-aminosalicílico

30.-

En un recipiente de reacción conteniendo áci-



- 5.- do p-aminosalicílico (16 g) y N,n-dimetil anilina - (13 ml) disuelta en acetona (150 ml), se añadió gota a gota cloruro diacetil- β -resorcinoilo (20 g) en acetona seca (100 ml). Después de 3 horas de reacción a la temperatura del ambiente y evaporación, se obtuvo un precipitado (31 g) acidificando con ácido clorhídrico diluido, que se recuperó por filtración. Se obtuvieron cristales similares a agujas a partir de acetona y agua (25 g) del ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico con un punto de fusión de 199-202°C.
- 10.-

EJEMPLO 5

- 15.- Se disolvió el polvo (20 g) del ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico en el Ejemplo 4 en solución 2N-hidróxido de sodio (20 ml). Después de dejar estar durante 3 horas a la temperatura del ambiente, se neutralizó la solución con ácido clorhídrico dando un precipitado. Se obtuvo, recristalizado a partir de acetona y agua, en polvo blanco (12,5 g) del ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico. Punto de descomposición: 280-285°C.
- 20.-

EJEMPLO 6

- 25.- Se disolvió ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico (18 g) en metanol (370 ml), añadiéndose hidróxido de sodio (2,76 g) en solución acuosa (96 ml) gota a gota con agitación. Se ajustó el pH de la solución a 7,6-7,8 y se evaporó el metanol. Enfriando la solución condensada, se obtuvieron cristales precipitados que se recuperaron por filtración, se lavaron con acetona y se secaron a presión reducida. Se obtuvieron cristales amarillo claro de ácido monoxídico N-(2,4-dihidro
- 30.-



xibenzoil)-4-aminosalicílico (14,2 g). El punto de descomposición del producto es de 250-255°C.

5.- El mismo método se aplicó con ligeras modificaciones para producir ácido monopotásico N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico. Empleando hidróxido de potasio en lugar de hidróxido de sodio. El punto de descomposición de la sal monopotásica es de 247-252°C.

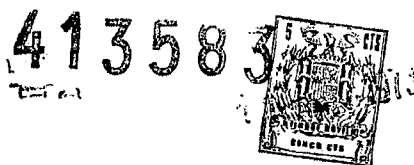
EJEMPLO 7

10.- 1) Se disolvió ácido N-(2,4-hidroxibenzoil)-4-aminosalicílico (5 g) a hidróxido de calcio (0,64 g) en una mezcla de agua (100 ml) y metanol (200 ml) calentando a 50°C. Después de terminar la solución, se evaporó el metanol a presión reducida y se dejó estar la solución condensada a 5°C para producir cristales blancos que se filtraron, se enjuagaron con agua y se secaron durante la noche en vacío a 40°C.

15.- Se obtuvo [ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico]₂.Ca (5,1 g), punto de fusión 260-265°C, con descomposición.

20.- 2) De forma similar, se disolvieron el ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico (5 g) e hidróxido de calcio (1,28 g) en una mezcla de agua (50 ml) y metanol (100 ml) agitando durante dos horas a la temperatura del ambiente. El metanol se evaporó entonces a presión reducida hasta que empezaron a precipitarse los cristales. Después de ulterior cristalización a 5°C, se recogió el precipitado por filtración, se enjuagó con agua y se secó durante la noche y en vacío a 40°C. Se obtuvo [N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico]₂ - 2Ca (4,6 g), con un punto de fusión de 250-255°C, con

25.-
30.-



descomposición.

EJEMPLO 8

5.- Se disolvió ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico (10 g) en metanol (200 ml) y agua (10 ml), añadiéndose una solución de hidróxido de sodio 0,5 N (53,6 ml) gota a gota a la temperatura del ambiente y con agitación durante treinta minutos. El pH de la solución se llevó por último a 7,6-7,8. Después de evaporar el metanol, se dejó estar la solución

10.- condensada durante la noche para enfriarse, y se obtuvieron cristales precipitados que se recuperaron por filtración, se lavaron con acetona y se secaron. Se obtuvieron cristales del ácido monosódico N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico (8,2 g), con un contenido de sodio de 5,5 % y un punto de fusión de 190-200°C.

15.-

EJEMPLO 9

20.- Se disolvió ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico (10 g) en metanol (200 ml) y agua (100 ml), a lo que se añadió hidróxido de calcio en polvo (10 g). Con agitación durante 3 horas a la temperatura del ambiente, se obtuvo una solución completa. El metanol se evaporó entonces a presión reducida hasta que los cristales se empezaron a precipitar. Dejado estar a 5°C,

25.- se obtuvo un precipitado que se filtró, se enjuagó con agua, y se secó durante la noche en vacío a 40°C. Se obtuvo ácido N-(2,4-diacetoxibenzoil)-4-aminosalicílico $\cdot 2 \cdot \text{Ca}$ (8,5 g), contenido de calcio: 4,6%, punto de fusión: 195-204°C. con descomposición.

30.-

EJEMPLO 10

Se prepararon según las técnicas convenciona--



les para su producción, dos tipos de tabletas (A y B) adecuadas para administración oral y conteniendo los siguientes ingredientes:

	Ingredientes:	Peso (mg)
5.-	A) Acido sodio n-(2,4-dihidroxibenzoil)- 4-aminosalicílico	250
	Celulosas carboxil metil sodio	10
	Lactosa	213
	Almidón de maiz	25
	Estearato de magnesio	2
10.-	B) Acido sodio n-(2,4-diacetoxibenzoil)- 4-aminosalicílico	250
	Tragacanto	10
	Lactosa	207,5
	Almidón de maiz	25
	Talco	5
15.-	Estearato de magnesio	2,5

EJEMPLO 11

Se prepararon de la forma convencional dos tipos de cápsulas secas llenas (A y B) adecuadas para administración conteniendo los ingredientes siguientes.

	Ingredientes:	Peso (mg)
20.-	A) Acido N-(2,4-dihidroxibenzoil)- 4-aminosalicílico	250
	Diluyente sólido inerte (por ejemplo almidón, lactosa)	248
	Estearato de magnesio	2
25.-	B) Acido N-(2,4-diacetoxibenzoil)- 4-aminosalicílico	250
	Diluyente sólido inerte (por ejemplo almidón, lactosa)	247,5
	Estearato de magnesio	2,5

30.-



Las cápsulas así preparadas se administraron a un paciente a una dosis de 2 a 4 cápsulas al día.

5.- Los ejemplos anteriores pueden repetirse con éxito similar sustituyendo los reactivos genérica o específicamente descritos y o las condiciones de realización de esta invención por las utilizadas en los ejemplos anteriores.

10.- Por la descripción anterior, cualquiera experto en esta materia puede comprobar fácilmente las características esenciales de esta invención, y, sin apartarse del espíritu y del ámbito de la misma, pueden introducir diversos cambios y modificaciones a la invención para adaptarla a las diversas condiciones de uso.

15.- FIGURAS 1 - 5

- 1) Longitud de onda, μ
- 2) % de transmisión
- 3) Frecuencia, cm^{-1}

FIGURA 6.

- 20.- 1) Forma ácida
- 2) Disolvente

FIGURA 7

- 1) Disolvente
- 2) Forma Na

25.- La presente solicitud, que corresponde a la depositada en Japón bajo el número 37385/72 de fecha 15 de abril de 1972, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

30.- N O T A

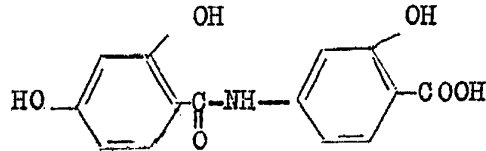
Se declara como de propiedad y novedad para -



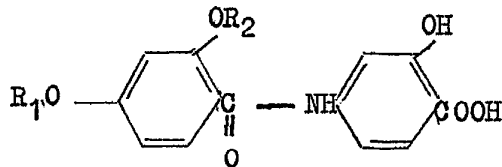
todo el territorio español el contenido de las siguientes:

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

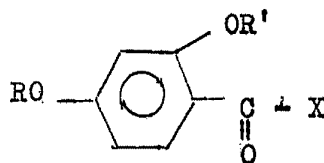
- 5.- 1ª.- Un proceso para preparar un compuesto seleccionado del grupo constituido por el ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico de la fórmula:



- 10.- y las formas enmascaradas del ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico, que está representado por la fórmula:



- 15.- en donde R₁ es un grupo hidroxilo de enmascaramiento seleccionado de la clase constituida por un grupo alcanoilo inferior, un grupo aroilo, un grupo carboalkoxilo inferior o un grupo carbobenzoico y R₂ es un átomo de hidrógeno, o un grupo de enmascaramiento de hidroxilo seleccionado de la clase constituida por un grupo alcanoilo inferior y un grupo aroilo, un grupo carboalkosilo o un grupo carbobenzoico y sales no tóxicas farmacéuticamente aceptables de los mismos; que comprende la condensación
- 20.- de un compuesto del ácido -resorcílico de fórmula:
- 25.-



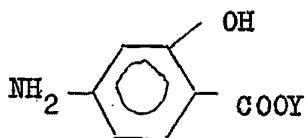
413583



-40-

en donde R y R' son un grupo hidroxilo de enmascaramiento o hidrógeno, y X es un hidroxilo o halógeno, - con un compuesto del ácido p-aminosalicílico de fórmula:

5.-



en donde Y es hidrógeno o un catión fisiológicamente aceptable y luego, si fuera necesario, convirtiendo -- cualquier grupo de hidroxilo de enmascaramiento presente en el producto de condensación resultante en hidrógeno.

10.-

2ª.- Un proceso para preparar un compuesto se-

leccionado del grupo constituido por el ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico de acuerdo con la reivindicación 1ª, en donde R y R' son cada uno seleccionados de alcanoilo inferior, aroilo, carboalkosilo inferior, grupo carbobenzoico, tritilo, trimetilsililo y tetrahidropiraniilo.

15.-

3ª.- Un proceso para preparar un compuesto se-

leccionado del grupo constituido por el ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico de acuerdo con la reivindicación 1ª en donde Y se selecciona del grupo -- constituido por cationes de sodio, potasio, calcio, magnesio o aluminio .

20.-

4ª.- Un proceso para preparar un compuesto se-

leccionado del grupo constituido por el ácido N-(2,4-dihidroxibenzoil)-4-aminosalicílico de acuerdo con la - reivindicación 1ª comprendiendo además la conversión del producto resultante a una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, haciendo reaccionar dicho producto con un

25.-

30.-



cación metálico en solución para formar una sal metálica de dicho producto.

5^a.- UN PROCESO PARA PREPARAR UN COMPUESTO SELECCIONADO DEL GRUPO CONSTITUIDO POR EL ACIDO N-(2,4-DIHIIDROXIBENZOL)-4-AMINOSALICILICO.

5.-

Todo ello tal y como se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de CUARENTA Y UNA hojas escritas a máquina por una sola de sus caras y dibujos que la ilustran.

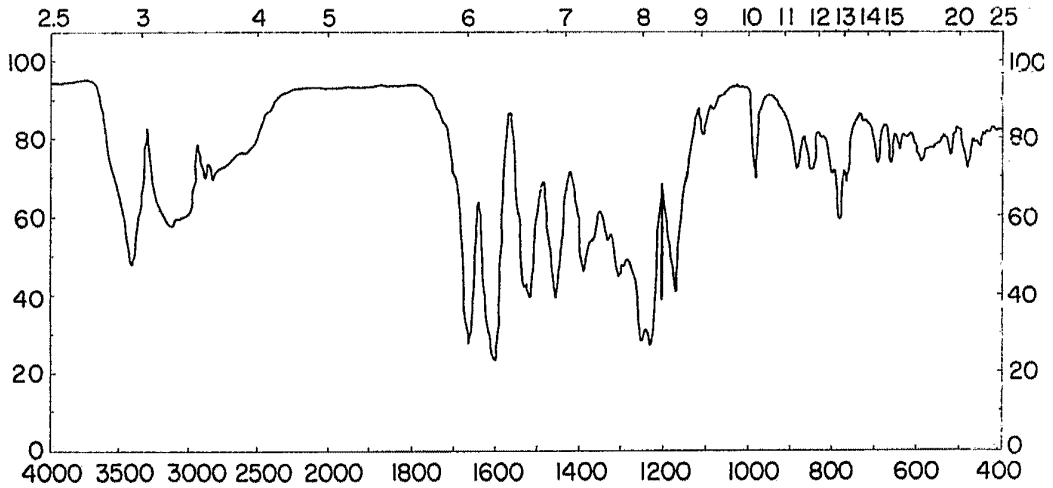
Madrid, 11 de abril de 1973

E. GONZALEZ VACAS
P.

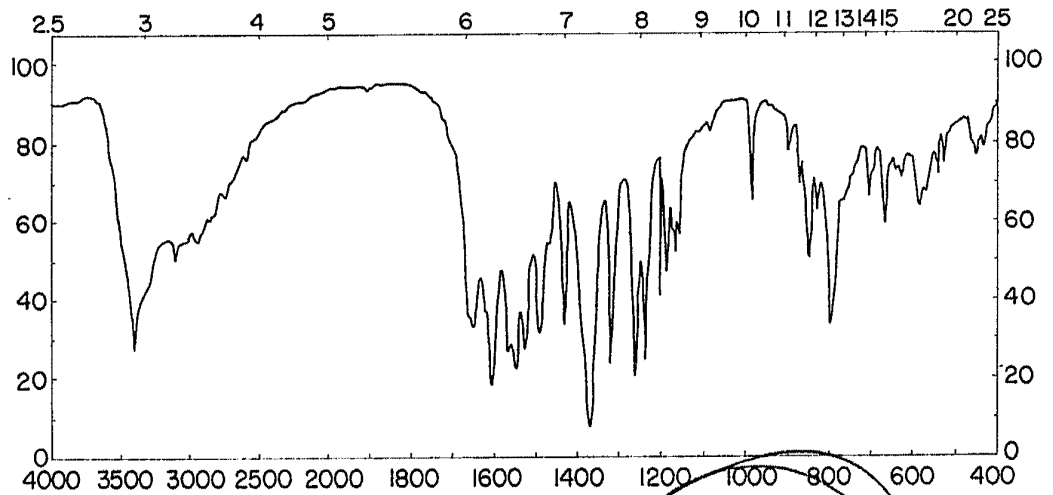
413583



. 1



. 2



Madrid, 11 de abril de 1973

E. GONZALEZ VAÑAS

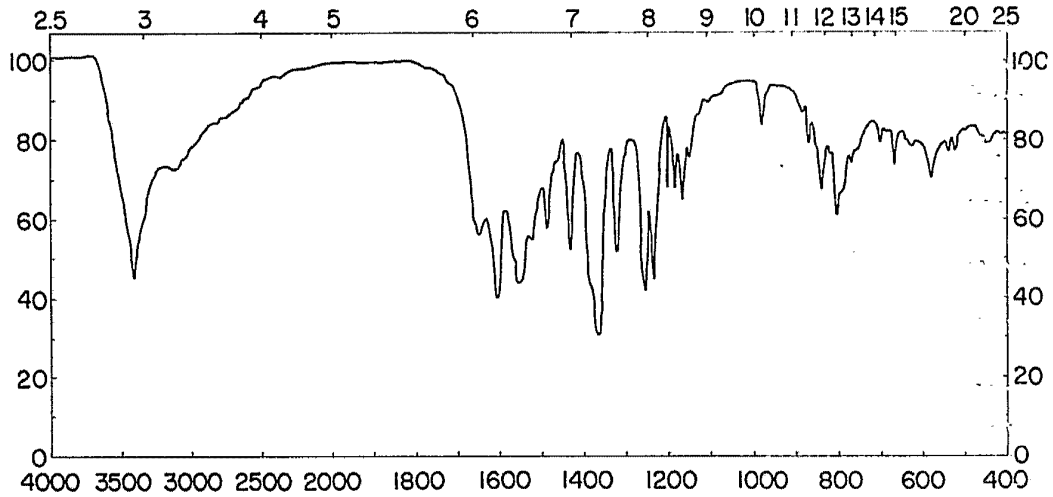
Escala variable.

413583

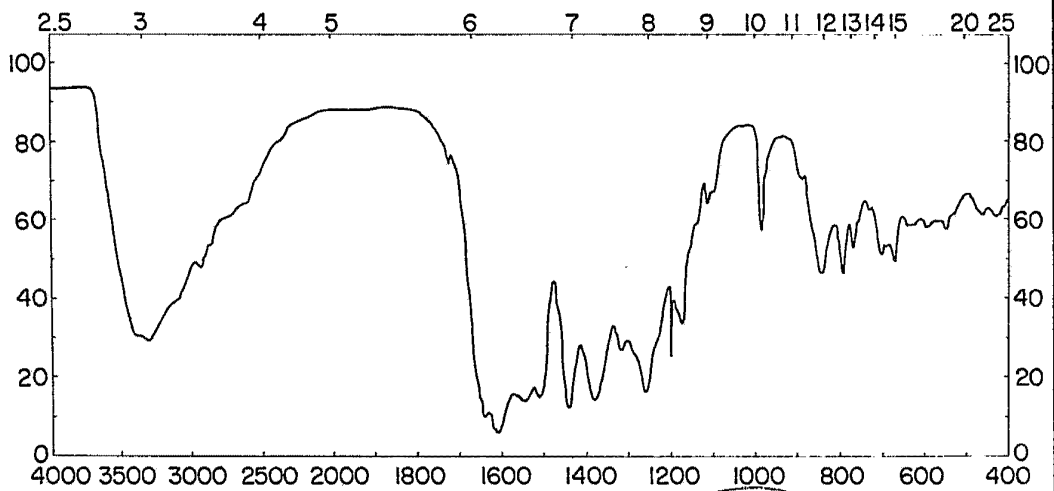


1973

. 3



. 4



Madrid, 11 de abril de 1973

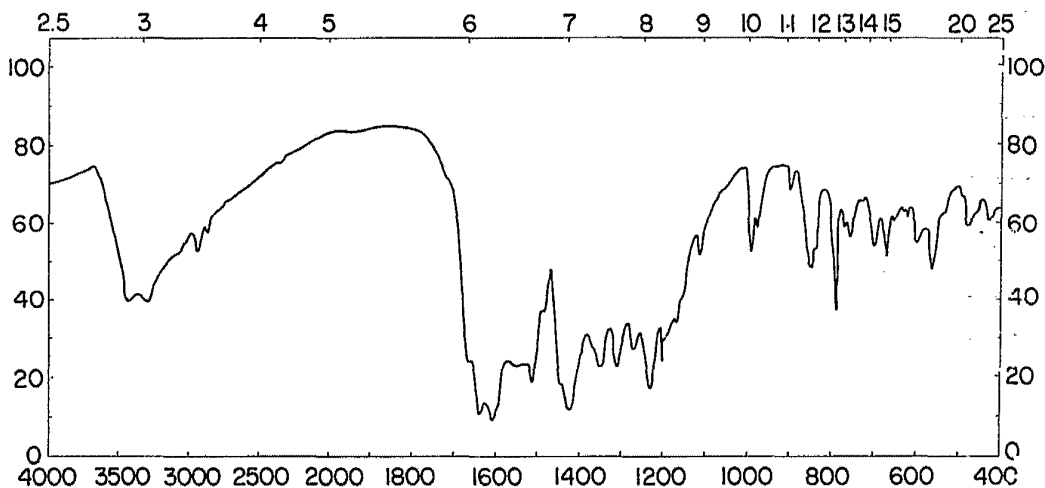
E. GONZALEZ YACAS
C. P.

Escala variable.

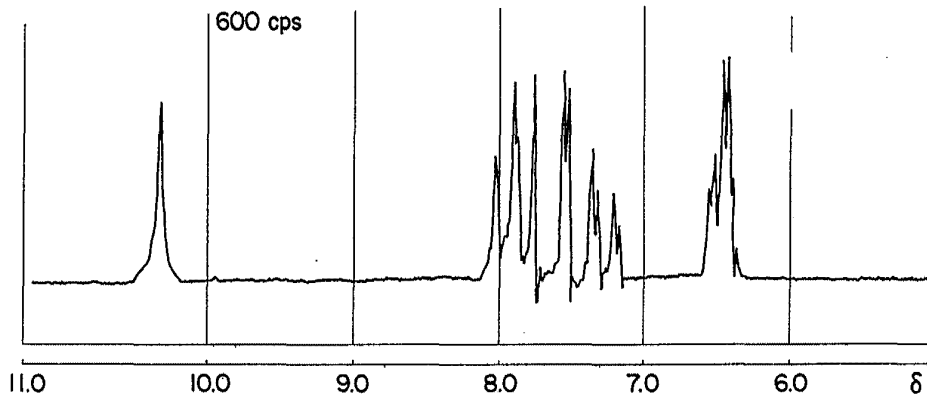
413583



5



6

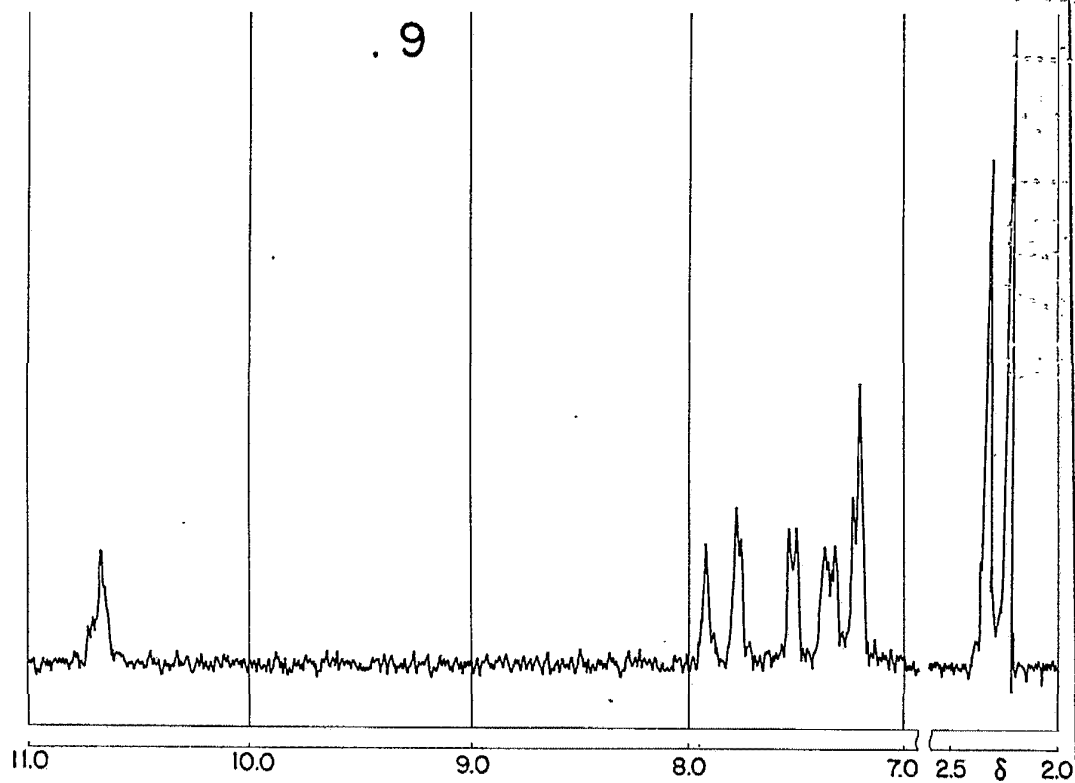


Madrid, 11 de abril de 1973

E. GONZALEZ VILLAS
P. P.

Escala variable.

413583



Madrid, 11 de abril de 1973

ENCAMILLER VACAS
S. A.

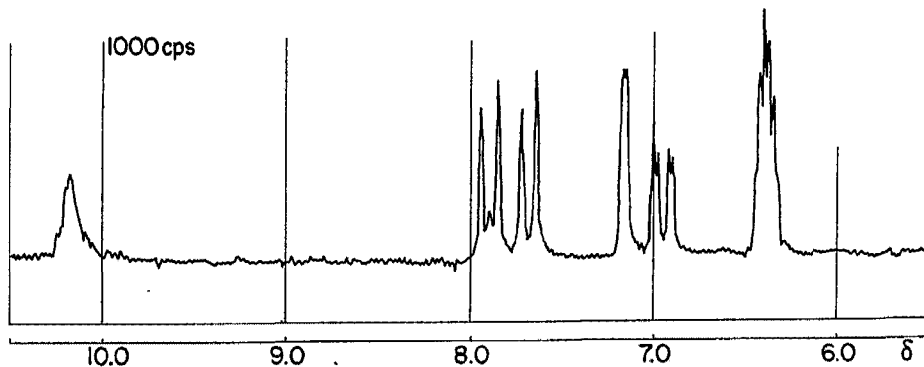
Escala variable.

413,583

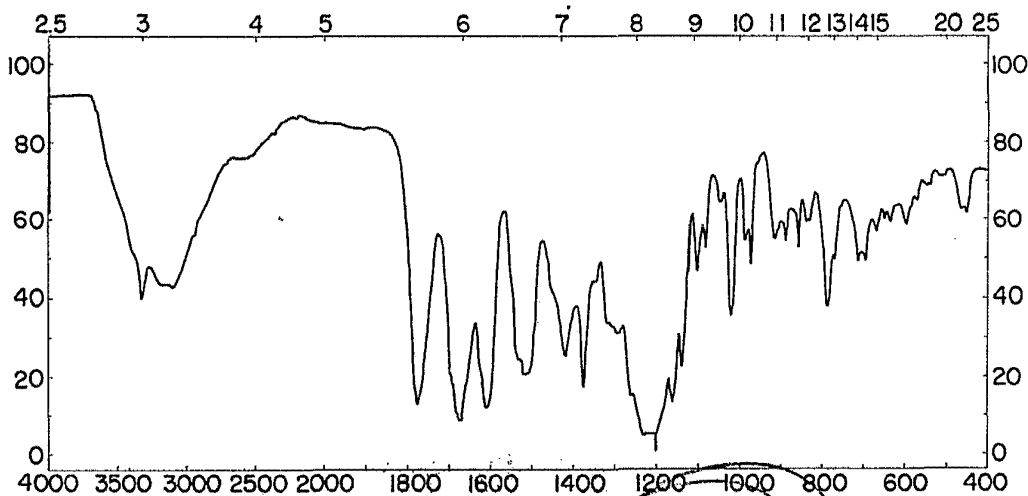
413583



. 7



. 8



Madrid, 11 de abril de 1973

M. GONZALEZ MARGAS
C. P.

Escala variable.