



PATENTE DE INVENCION

"Quaternary Ammonium Compounds"

415587

| |
|------------------------------------|
| Int. Cl. ² : C07D, A61K |
|------------------------------------|

Memoria Descriptiva F. C. 18-6-75

sobre:

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN NUEVO COMPUESTO
DE AMONIO CUATERNARIO.

Solicitante: RECKITT & COLMAN PRODUCTS LIMITED, entidad inglesa,
residente en Dansom Lane, Hull, HU8 7DS, Yorkshire,
Inglaterra.

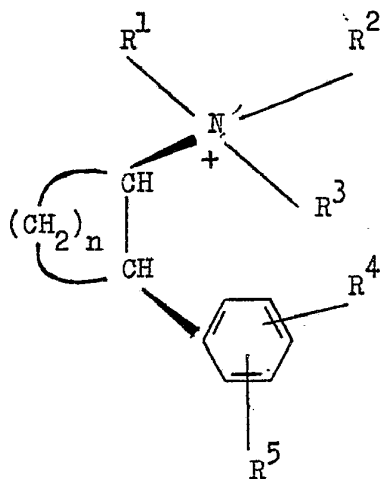
Esta invención se refiere a un procedimiento para
la preparación de nuevos compuestos de amonio cuaternario y ob
tener formulaciones farmacéuticas que contienen dichos compues
tos.

5. Según esta invención, se proporcionan compuestos



415587

de la fórmula



I

5. donde n es un entero de 3 a 5; R¹ es alquilo de 1 a 3 átomos de carbono; NR²R³ es pirrolidino o piperidino; R⁴ es hidrógeno, hidroxilo, cloro, alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, o el grupo OR⁶ donde R⁶ es acetilo, propionilo, butirilo o dimetilcarbamoilo; R⁵ es hidrógeno o puede ser metilo, cloro o hidroxilo, cuando R⁴ es hidroxilo; A es un anión aceptable para usos farmacéuticos.
10. Adicionalmente, cuando R⁴ es hidroxilo, NR²R³ puede ser dimetilamino o dietilamino. Adicionalmente R⁶ puede ser carbamoilo, o metil-, etil-, propil-, dietil- o difenil-carbamoilo.
15. En un aspecto preferente de la invención, se proporcionan compuestos de fórmula I donde n es un entero 4, R¹ es metilo, NR²R³ es pirrolidino, R⁴ es 3-hidroxilo, R⁵ es hidrógeno o 6-hidroxilo, A es bromuro o yoduro.

Como ejemplos de aniones aceptables para usos farmacéuticos se citan el cloruro, bromuro, yoduro, sulfato de me

415587



tilo y p-toluenosulfonato.

El invento proporciona igualmente composiciones terapéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula I junto con un diluyente o excipiente aceptable para usos farmacéuticos.

5.

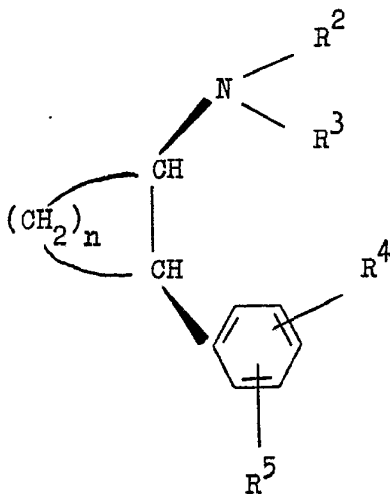
Se apreciará que los compuestos tienen la configuración cis de los grupos arilo y amonio cuaternario.

10.

Los compuestos de la invención son inhibidores potentes de la acetilcolinesterasa y cabe esperar su empleo en situaciones clínicas que sean atribuibles a una carencia efectiva de la acetilcolina neurotransmisora.

Los compuestos se pueden preparar haciendo reaccionar un haluro o sulfato alquílico R^1X , donde R^1 tiene el significado indicado anteriormente, con una base de la fórmula:

15.



II

donde n , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 tienen el significado definido anteriormente y, si se desea, convirtiendo el compuesto cuaternario resultante en otra sal cuaternaria por métodos tradicionales.

20.

El invento se ilustra a continuación en los ejem-



plos que siguen y que no limitan su alcance:

EJEMPLO 1

Metioduro de cis-2-fenil-1-pirrolidinociclohexano

5. Se dejó reposar una solución de cis-2-fenil-1-pirrolidinociclohexano (5,0 gr) e iodometano (10 gm, 3 moles) en éter dietílico (50 cc) a temperatura ambiente durante 96 horas. Se recogió y cristalizó el sólido precipitado (5,5 gm) en acetato etílico/etanol para obtener el producto deseado (4,5 gm), punto de fusión 178 a 180°C. Hallado: C 55,0; H 7,0; N 3,9; I 33,7; $C_{17}H_{26}IN$ requiere: C 55,0; H 7,1; N 3,8; I 34,2%.
- 10.

EJEMPLO 2

Metobromuro de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano

15. (a) Se calentaron 2-(3-metoxifenil)ciclohexano (30 gm), pirrolidina (20 gm) y ácido fórmico de 98 a 100% (20 gm) bajo reflujo y a una temperatura de 130 a 140°C durante 18 horas. Se vertió la mezcla enfriada en ácido clorhídrico diluido, se lavó con éter, se basificó y se extrajo con éter. El extracto seco se evaporó para obtener cis-2-(3-metoxifenil)-1-pirrolidinociclohexano (19 gm) como un aceite incoloro. Una muestra destilada de 150 a 154°C/1 mm dió un hidrocloreuro, punto de fusión 145 a 147°C. Hallado: C 68,7; H 8,8; N 4,7; Cl 12,4; $C_{17}H_{25}NO$. HCl requiere: C 69,0; H 8,9; N 4,7; Cl 11,9%.
- 20.
25. (b) (1) Se hirvió el aceite anterior (19 gm) en ácido bromhídrico al 47% (60 cc) durante 6 horas. Se diluyó la solución enfriada con agua, se lavó con éter, se basificó y se extrajo con éter. Se evaporó el extracto seco. Se trituró el residuo con éter de petróleo (punto de ebullición 40 a 60°C) y se cristalizó de éter de petróleo (punto de ebullición 60 a 80°C)/acetato etílico para obtener cis-2-(3-hidroxifenil)-1-
- 30.



-pirrolidinociclohexano (12 gm), punto de fusión 124 a 126°C.
Hallado: C 77,7; H 9,6; N 5,5; $C_{16}H_{23}NO$ requiere: C
78,2; H 9,5; N 5,7%.

5. (b) (2) Se añadió cuidadosamente una solución de
cis-2-(3-metoxifenil)-1-pirrolidinociclohexano (2,5 gm) en di-
clorometano a una solución, refrigerada con hielo, de tribromu-
ro de boro (3 cc) en diclorometano (15 cc). La mezcla se dejó
aparte a temperatura ambiente durante 18 horas y se hidrolizó
con agua. Se recogió la capa acuosa, se hizo alcalina con amo-
niaco y se extrajo con éter. Se lavaron los extractos étereos
10. se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron. Se cristalizó el residuo
en etanol acuoso para obtener cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirroli-
dinociclohexano (2,0 gm), punto de fusión 125 a 127°C, idénti-
co a (b) (1) anterior.

15. (c) Se enfrió una solución de cis-2-(3-hidroxife-
nil)-1-pirrolidinociclohexano (0,6 gm) en etilmetilcetona en
un baño de hielo/agua y se añadió bromuro de metilo (1,5 cc).
Se cerró herméticamente el matraz y se puso aparte a temperatu-
ra ambiente durante 72 horas. Se recogió el sólido (0,7 gm) y
20. se recristalizó en acetato etílico/etanol para obtener metobro-
muro de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano (0,4
gm), punto de fusión 189 a 192°C. Hallado: C 59,8; H 7,6;
N 4,1; Br 23,4; $C_{17}H_{26}BrNO$ requiere: C 59,9; H 7,7; N
4,1; Br 23,5%.

25.

EJEMPLO 3

Metocloruro de cis-2-fenil-1-pirrolidinociclohexano

Se agitó una solución acuosa de metioduro de cis-
2-fenil-1-pirrolidinociclohexano (0,5 gm) a una temperatura de
80 a 100°C con cloruro de plata recién preparado (de 0,5 gm de
30. nitrato de plata) durante 3 horas, se enfrió y se filtró. Se

415587



5. evaporó el filtrado y se trituro el residuo con acetato etílico para proporcionar el metocloruro (0,2 gm), punto de fusión 193 a 197°C. Hallado: C 17,2; H 9,2; N 5,0; Cl 12,2; $C_{17}H_{26}ClN$. $1/2 H_2O$ requiere: C 70,7; H 9,4; N 4,9; Cl 12,3%.

EJEMPLO 4

Metocloruro de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano

10. Se agitó una solución acuosa de metioduro de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano (1,0 gm), a una temperatura de 80 a 100°C, con cloruro de plata recién preparado (a partir de 1,0 gm de nitrato de plata) durante 3 horas, se enfrió y se filtró. Se evaporó el filtrado y se trituro el residuo con acetato etílico para obtener el metocloruro (0,5 gm), punto de fusión 135 a 140°C. Hallado: C 65,8; H 8,8;
15. N 4,3; Cl 11,1; $C_{17}H_{26}ClNO$. H_2O requiere: C 65,1; H 9,0; N 4,5; Cl 11,3%.

EJEMPLO 5

Metioduro de cis-2-(3-butiloxifenil)-1-pirrolidinociclohexano

20. Se añadió cloruro de butirilo (4 gm) cuidadosamente, a temperatura ambiente, a una solución de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano (5 gm) y trietilamina (10 cc) en diclorometano. Al cabo de 48 horas a temperatura ambiente, la mezcla se lavó con agua, se recogió la capa orgánica, se se-
có (Na_2SO_4) y se evaporó. Se cromatografió el residuo en una
25. columna de alúmina (neutra; grado 1) eluyendo con acetato etílico/éter de petróleo (punto de ebullición 60 a 80°C) (1:4), y la evaporación del disolvente dió un aceite (5,5 gm). Se disolvió el aceite (5,0 gm) en éter y se añadió iodometano (10 gm); la mezcla se dejó aparte, a temperatura ambiente, durante
30. 48 horas. Se recogió el sólido y se recristalizó de acetato

415587



etilico/etanol para proporcionar el metioduro (3,8 gm), punto de fusión 166 a 167°C. Hallado: C 55,1; H 6,8; N 2,9; I 27,9; $C_{21}H_{32}INO_2$ requiere: C 55,1; H 7,1; N 3,1; I 27,8%.

EJEMPLO 6

5. Metioduro de cis-2-(3-dimetilcarbamoiloxifenil)-1-pirrolidino-ciclohexano

- Se calentaron cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidino ciclohexano (6 gm), trietilamina (10 gm) y cloruro de dimetilcarbamoilo (5,3 gm) en xileno hirviendo bajo reflujo durante 5 horas. Se virtió la mezcla enfriada en agua y se extrajo en éter. Se lavaron los extractos etéreos, se secaron (Na_2SO_4) y se evaporaron. Se cromatografió el residuo (7,9 gm) en una columna de alúmina (400 gm; neutra, grado 1) eluyendo con acetato etílico/éter de petróleo (punto de ebullición 60 a 80°C) (1:9), y la evaporación del disolvente proporcionó un aceite (5,0 gm). Se disolvió el aceite (5,0 gm) en éter y se añadió yodometano (7 gm); se apartó la mezcla, a temperatura ambiente durante 24 horas. Se recogió el sólido y se recristalizó en acetato etílico/etanol para obtener el metioduro (4,2 gm), punto de fusión 184 a 186°C. Hallado: C 52,4; H 6,9; N 6,2; I 28,1; $C_{20}H_{31}IN_2O_2$ requiere: C 52,4; H 6,8; N 6,1; I 27,7%.
- 10.
- 15.
- 20.



415587

- 8 -



415587

T A B L A

| Ejemplo | R ² | R ³ | A | R ⁴ | n | Rendimiento % | punto de fusión ^o C | Hallado % | | | Fórmula | Calculado % | | |
|---------|----------------------------------|----------------|---|-----------------------|---|---------------|--------------------------------|-----------|-----|-----|--|-------------|-----|-----|
| | | | | | | | | C | H | N | | C | H | N |
| 7 | -(CH) ₂ ⁴ | - | I | 4-Me | 4 | 40 | 124-127 | 56,0 | 7,4 | 3,6 | C ₁₈ H ₂₈ IN | 56,2 | 7,3 | 3,6 |
| 8 | -(CH) ₂ ⁴ | - | I | 3-Me | 4 | 50 | 176-178 | 55,7 | 7,2 | 3,7 | C ₁₈ H ₂₈ IN | 56,2 | 7,3 | 3,6 |
| 9 | -(OH) ₂ ⁴ | - | I | 3-Cl | 4 | 45 | 160-162 | 49,8 | 6,2 | 3,2 | C ₁₇ H ₂₅ CLIN | 50,3 | 6,2 | 3,5 |
| 10 | -(CH ₂) ₄ | - | I | 4-Cl | 4 | 50 | 187-189 | 50,3 | 6,0 | 3,3 | C ₁₇ H ₂₅ CLIN | 50,3 | 6,2 | 3,5 |
| 11 | -(CH ₂) ₄ | - | I | 3-OH | 4 | 75 | 160-164 | 52,5 | 6,8 | 3,6 | C ₁₇ H ₂₆ INO | 52,7 | 6,8 | 3,6 |
| 12 | -(CH ₂) ₄ | - | I | 4-OH | 4 | 70 | 232-233 | 52,7 | 6,8 | 4,0 | C ₁₇ H ₂₆ INO | 52,7 | 6,8 | 3,6 |
| 13 | -(CH ₂) ₅ | - | I | H | 4 | 55 | 212-214 | 56,1 | 7,4 | 3,6 | C ₁₈ H ₂₈ IN | 56,1 | 7,3 | 3,6 |
| 14 | -(CH ₂) ₄ | - | I | 3-OH | 3 | 90 | 125-127 | 51,3 | 6,5 | 3,8 | C ₁₆ H ₂₄ INO | 51,5 | 6,5 | 3,8 |
| 15 | -(CH ₂) ₄ | - | I | 3-OOME | 4 | 50 | 152-154 | 53,0 | 6,4 | 3,2 | C ₁₉ H ₂₈ INO ₂ | 53,1 | 6,6 | 3,3 |
| 16 | -(CH ₂) ₄ | - | I | 3-OH | 4 | 50 | 195-197 | 50,7 | 6,5 | 3,7 | C ₁₇ H ₂₆ INO ₂ | 50,6 | 6,5 | 3,5 |
| 17 | -(CH ₂) ₄ | - | I | 3-OH | 5 | 30 | 180-185 | 53,7 | 7,2 | 3,2 | C ₁₈ H ₂₈ INO | 53,9 | 7,0 | 3,5 |
| 18 | Me | Me | I | 3-OH | 4 | 50 | 136-141 | 51,4 | 6,9 | 3,8 | C ₁₆ H ₂₆ INO | 51,2 | 7,0 | 3,8 |
| 19 | -(OH) ₂ ⁴ | - | I | 3-OCONPh ₂ | 4 | 65 | 208-211 | 61,9 | 6,1 | 4,7 | C ₃₀ H ₃₅ INO ₂ | 61,9 | 6,1 | 4,8 |
| 20 | -(OH) ₂ ⁴ | - | I | 3-OCONEt ₂ | 4 | 55 | 198-201 | 53,8 | 7,1 | 5,7 | C ₂₂ H ₃₅ INO ₂ | 54,2 | 7,2 | 5,8 |

415587



T A B L A

| Ejemplo | R ² | R ³ | A | R ⁴ | n | Rendimiento % | punto de fusión°C | Hallad | |
|---------|------------------------------------|----------------|---|-----------------------|---|---------------|-------------------|--------|---|
| | | | | | | | | C | |
| 7 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 4-Me | 4 | 40 | 124-127 | 56,0 | 7 |
| 8 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-Me | 4 | 50 | 176-178 | 55,7 | 7 |
| 9 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-Cl | 4 | 45 | 160-162 | 49,8 | 6 |
| 10 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 4-Cl | 4 | 50 | 187-189 | 50,3 | 6 |
| 11 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-OH | 4 | 75 | 160-164 | 52,5 | 6 |
| 12 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 4-OH | 4 | 70 | 232-233 | 52,7 | 6 |
| 13 | -(CH ₂) ₅ - | | I | H | 4 | 55 | 212-214 | 56,1 | 7 |
| 14 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-OH | 3 | 90 | 125-127 | 51,3 | 6 |
| 15 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-OCOMe | 4 | 50 | 152-154 | 53,0 | 6 |
| 16 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-OH | 4 | 50 | 195-197 | 50,7 | 6 |
| 17 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-OH | 5 | 30 | 180-185 | 53,7 | 7 |
| 18 | Me | Me | I | 3-OH | 4 | 50 | 136-141 | 51,4 | 6 |
| 19 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-OCOPh ₂ | 4 | 65 | 208-211 | 61,9 | 6 |
| 20 | -(CH ₂) ₄ - | | I | 3-OCONEt ₂ | 4 | 55 | 198-201 | 53,8 | 7 |

415587



| Hallado % | | | Fórmula | Calculado % | | |
|-----------|-----|-----|-----------------------|-------------|-----|-----|
| C | H | N | | C | H | N |
| 56,0 | 7,4 | 3,6 | $C_{18}H_{28}IN$ | 56,2 | 7,3 | 3,6 |
| 55,7 | 7,2 | 3,7 | $C_{18}H_{28}IN$ | 56,2 | 7,3 | 3,6 |
| 49,8 | 6,2 | 3,2 | $C_{17}H_{25}ClIN$ | 50,3 | 6,2 | 3,5 |
| 50,3 | 6,0 | 3,3 | $C_{17}H_{25}ClIN$ | 50,3 | 6,2 | 3,5 |
| 52,5 | 6,8 | 3,6 | $C_{17}H_{26}INO$ | 52,7 | 6,8 | 3,6 |
| 52,7 | 6,8 | 4,0 | $C_{17}H_{26}INO$ | 52,7 | 6,8 | 3,6 |
| 56,1 | 7,4 | 3,6 | $C_{18}H_{28}IN$ | 56,1 | 7,3 | 3,6 |
| 51,3 | 6,5 | 3,8 | $C_{16}H_{24}INO$ | 51,5 | 6,5 | 3,8 |
| 53,0 | 6,4 | 3,2 | $C_{19}H_{28}INO_2$ | 53,1 | 6,6 | 3,3 |
| 50,7 | 6,5 | 3,7 | $C_{17}H_{26}INO_2$ | 50,6 | 6,5 | 3,5 |
| 53,7 | 7,2 | 3,2 | $C_{18}H_{28}INO$ | 53,9 | 7,0 | 3,5 |
| 51,4 | 6,9 | 3,8 | $C_{16}H_{26}INO$ | 51,2 | 7,0 | 3,8 |
| 61,9 | 6,1 | 4,7 | $C_{30}H_{35}IN_2O_2$ | 61,9 | 6,1 | 4,8 |
| 53,8 | 7,1 | 5,7 | $C_{22}H_{35}IN_2O_2$ | 54,2 | 7,2 | 5,8 |

415587



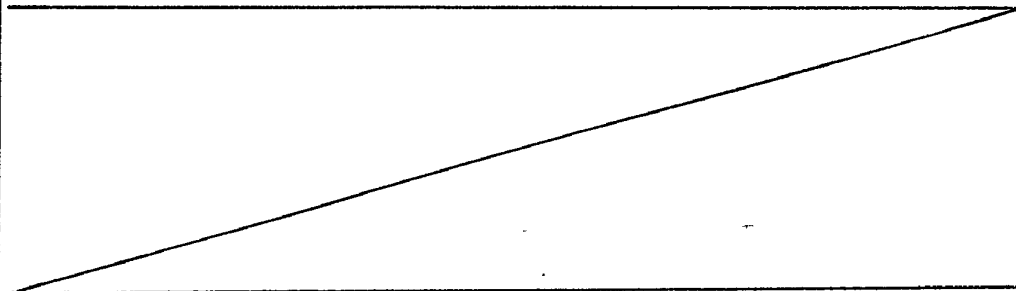
- La tabla expone detalles de ejemplos adicionales de compuestos de la fórmula I donde R¹ es metilo y R⁵ es hidrógeno, excepto en el ejemplo 16 donde R⁵ es 6-hidroxi y el ejemplo 18 donde R¹ es etilo. Los ejemplos 7 a 18 se prepararon por el método del ejemplo 1, y los ejemplos 19 y 20 por el método del ejemplo 6.

EJEMPLO 21

P-toluenosulfonato de N-(cis-2-fenilciclohexil)-N-metilpirrolidino

10. Se calentaron cis-2-fenil-1-pirrolidinociclohexano (2,3 gm) y p-toluenosulfonato de metilo (1,9 gm) en acetato etílico hirviente, bajo reflujo, durante 18 horas. Se formó lentamente un aceite que cristalizó rápidamente al enfriarse. La recristalización en alcohol etílico/acetato etílico proporcionó la sal cuaternaria (3,0 gm), punto de fusión 146 a 148°C
15. Análisis, hallado: C 68,0; H 8,3; N 3,2; S 7,6;
C₂₄H₃₃NO₃S 1/2H₂O requiere: C 67,8; H 8,1; N 3,3; S 7,5%.

- Los exámenes para hallar la actividad anticolinésterasa se llevaron a cabo in vitro por el método de Michel (J. Lab. Clin. Med 34, 1564, (1949)) empleando acetilcolina como substrato y hematíes humanos lavados como fuente de acetilcolinesterasa. Se exponen en la tabla las concentraciones de las drogas que producen aproximadamente un 50% de inhibición de la acetilcolinesterasa.



415587



| Número de ejemplo | Concentración |
|-------------------|----------------------|
| 1 | $2 \times 10^{-7} M$ |
| 2 | $2 \times 10^{-8} M$ |
| 5 | $2 \times 10^{-8} M$ |
| 7 | $10^{-6} M$ |
| 8 | $6 \times 10^{-6} M$ |
| 10 | $2 \times 10^{-7} M$ |
| 11 | $2 \times 10^{-8} M$ |
| 14 | $10^{-7} M$ |
| 16' | $10^{-8} M$ |
| Edrofonio | $5 \times 10^{-5} M$ |
| Neostigmina | $4 \times 10^{-7} M$ |

Las cifras de edrofonio y neostigmina se exponen con fines comparativos. Las cifras demuestran que los compuestos poseen propiedades anticolinesterasa comparables con la neostigmina, una droga clínicamente establecida, y en ocasiones más potentes que ésta. Contrastando con los resultados anteriores, la concentración correspondiente de metioduro de tras-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano (el compuesto trans correspondiente al compuesto cis del ejemplo 11) era solamente $10^{-4} M$, v.g., el compuesto cis es aproximadamente 5000 veces más activo que el compuesto trans.

Cabe esperar que los compuestos que son potentes inhibidores de la acetilcolinesterasa se utilicen en situaciones clínicas donde las condiciones patológicas se caracterizan por la carencia de tono de músculo del esqueleto o del músculo liso, v.g., miastenia grave, íleo paralítico, retención urina-

415587



ria y glaucoma. También se pueden emplear en la inversión de la relajación muscular inducida durante una intervención quirúrgica mediante relajantes no depolarizantes de los músculos del esqueleto como es la D-tubocurarina.

5. Se emplea la D-tubocurarina clínicamente para producir relajación de los músculos del esqueleto en pacientes sometidos a ciertos procedimientos quirúrgicos. Después de la intervención quirúrgica, se emplean antiacetilcolinesterasas para invertir esta relajación. Se han realizado experimentos para medir la capacidad de los compuestos del invento para invertir el bloqueo de los músculos inducido por tubocurarina en ratas y gatos.

15. El método se basa en el método de Zaimis E, J. *Physiol* 122, 238 (1953) según el cual los animales se anestesian y se los sujeta rígidamente por el limbo del cuarto trase-ro izquierdo en una posición horizontal, con el tendón del músculo anterior de la tibia unido a un miógrafo de muelle plano. Se indujeron estirones repentinos o crispaduras del músculo tibial anterior por estimulación eléctrica supramaximal del nervio tibial y se registraron en un aparato de registro de banda.
20. Se inyectaron drogas disueltas en vehículo 0,9% salino en la vena femoral. Durante un experimento se estableció la dosis de tubocurarina necesaria para establecer un bloqueo parcial (80 al 90%) de la transmisión neuromuscular y posteriormente se
25. inyectaron drogas anticolinesterasa en el instante de máximo bloqueo. La recuperación conseguida después de la administración de una antiacetilcolinesterasa se comparó con la recuperación después de la tubocurarina por sí sola. Los resultados obtenidos con los compuestos de los ejemplos 1 y 11 se indican
30. a continuación, junto con los resultados obtenidos con neostig

415587



nina, una droga empleada en la actual práctica clínica.

| Nº de Ejemplo | Dosis ($\mu\text{g}/\text{kg}$) necesaria para producir un efecto anticurare máximo | |
|---------------|---|-------|
| | Gatos | Ratas |
| 1 | 100 | 100 |
| 11 | 30 | 25 |
| Neostigmina | 100 | 100 |

5. Se determinó el LD50 intravenoso en ratas para las tres drogas mencionadas y a partir de los resultados obtenidos se calcularon las relaciones terapéuticas (definidas como la relación entre LD50 y la dosis que da una inversión máxima de la tubocurarina):

| Nº de Ejemplo | LD50 mg/kg | Relación terapéutica |
|---------------|------------|----------------------|
| 1 | 1,5 | 7,2 |
| 11 | 0,18 | 15 |
| Neostigmina | 0,2 | 2 |

10. Estos resultados sugieren que cabía esperar que los compuestos de los ejemplos 1 y 11 tengan un amplio margen de seguridad cuando se utilicen en personas humanas.

415587



- En la clínica se administra por vía intravenosa una dosis de 2,5-3,0 mg de neostigmina para invertir los efectos neuromusculares de la tubocurarina. Tomando como base los resultados anteriores, se espera que una dosis intravenosa
5. igualmente eficaz en seres humanos de metobromuro de cis-2-fenil-1-pirrolidinociclohexano fuera de 1,0 a 3,0 mg, mientras que empleando metobromuro de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano la dosis sería de 0,5 a 1,0 mg. Un inconveniente que tiene el empleo de neostigmina en seres humanos es la
10. necesidad de una dosificación previa de atropina (1 mg) para evitar efectos muscarínicos indeseables (v.g., salivación, motilidad intestinal aumentada). Los experimentos realizados en animales con los compuestos de los ejemplos I y II han demostrado que dichos compuestos poseen menos actividad muscarínica
15. y, por consiguiente, puede que no sea necesario administrar una dosis previa de atropina a los pacientes.

- La confirmación de algunas de estas apreciaciones se debe a los resultados de experimentos realizados en seres humanos voluntarios. En estos experimentos se indujeron contracciones de los músculos de las piernas del compartimiento
20. anterior por estimulación supramaximal del nervio popliteal lateral.

- Después de registrar un período de actividad del control, se administró tubocurarina como una infusión de I.V.
25. lenta hasta que se redujo la altura de la crispadura del nervio a aproximadamente un 50% de los niveles de control. Tres minutos más tarde se administró la anticolinesterasa (I.V. en solución salina) y se comprobó la altura de la crispadura hasta que se volvieron a alcanzar los niveles de control. La recuperación producida por 2,5 mg de neostigmina (seguido de 1,2
- 30.



5. mg de atropina) se comparó con la recuperación producida por el metobromuro de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano (0,6 a 0,8 mg). En ambos casos se indujo una pronta recuperación, pero la incidencia de los efectos muscarínicos producida por este último compuesto fué menor que la producida por la combinación de neostigmina/atropina.

10. La miastenia es un síndrome de fatigabilidad aumentada en el músculo estriado. El rasgo característico del que se deriva el nombre de la enfermedad es una grave debilidad de los músculos voluntarios que comienza después del ejercicio pero que puede desaparecer después de un corto descanso. Aunque la debilidad puede afectar a cualquier músculo, los párpados, músculos extraoculares, músculos bulbares, músculos del cuello y proximales de los limbos superiores son los más comúnmente
15. afectados. Los músculos de las manos, limbo inferior y tronco se ven afectados normalmente después. Actualmente se acepta que la acetilcolina es el neurotransmisor en la unión neuromuscular. En la miastenia, parece ser una perturbación en el desprendimiento de acetilcolina desde el nervio dando por resulta
20. do una transmisión neuromuscular perjudicada. Los síntomas que aparecen como resultado de este defecto se pueden tratar bloqueando la acetilcolinesterasa, que es la enzima normalmente responsable del metabolismo de la acetilcolina.

25. No existe modelo de animal afectado para experimentación con miastenia grave actualmente y las drogas prospectivas se valoran inicialmente por su actividad antiacetilcolinesterasa en lugar de su actividad antimiaستénica. Las pruebas antiacetilcolinesterasa pueden subdividirse en pruebas in vitro e in vivo.

30. La experimentación in vitro de los compuestos se



llevó a cabo por el método de Ellmann, Biochem Pharmacol 7, 88 (1961) con acetiltiocolina como substrato y erythrocyte acetilcolinesterasa de animales bobinos, como la enzima. Las proporciones de reacción se determinaron con y sin inhibidor en condiciones competitivas (v.g., el substrato se añadió antes que el inhibidor). Los resultados se trazaron en gráfico por el método Lineweaver-Burk y se utilizaron estos gráficos para determinar las constantes del inhibidor (valores K_i). A continuación se indican los resultados obtenidos con los compuestos de los ejemplos I y II, junto con los resultados comparativos de la neostigmina.

| Nº de Ejemplo | K_i |
|----------------|-----------------------|
| I | $7,7 \times 10^{-9}M$ |
| II | $7,3 \times 10^{-9}M$ |
| Neostigmina | $3,0 \times 10^{-8}M$ |
| Piridostigmina | $4,8 \times 10^{-6}M$ |

Un valor bajo de K_i representa una elevada actividad antiacetilcolinesterasa y por los resultados se observará que los compuestos de los ejemplos I y II son más potentes que la neostigmina.

Las pruebas in vivo se llevaron a cabo empleando la prueba de miosis en ratones de Schneider R, J. Pharm Pharmacol 22, 298 (1970) donde las antiacetilcolinesterasas inducen constricción de la pupila en el ojo del ratón, y la prueba de cromodacriorroea de Burgen A. S. V. Brit. J. Pharmacol. 4; 185 (1949) donde las antiacetilcolinesterasas potencian la capaci-



dad de la acetilcolina para provocar lágrimas rojas en las ratas. Ambas pruebas permiten valorar la potencia y duración de acción de las antiacetilcolinesterasas. Los resultados se exponen en la tabla, donde se compara la potencia de diversas drogas con la de la neostignina, una droga actual de elección clínica.

| Nº de Ejemplo | Potencia | chromod. en ratas |
|---------------|-------------------|-------------------|
| | Miosis en ratones | |
| | SC | IP |
| 1 | 1,6 | 2,0 |
| 11 | 9,6 | 6,0 |
| Neostignina | 1,0 | 1,0 |
| Edrofonio | 0,04 | 0,09 |
| Ambenonio | 0,06 | 0,03 |
| Tacrina | 0,21 | 0,38 |

10. Por estos resultados se observará que los compuestos de los ejemplos 1 y 11 son más potentes que la neostignina y, por lo tanto, en el tratamiento de la mistenia una dosis de igual eficacia en seres humanos de metobromuro de cis-2-fenil-1-pirrolidinociclohexano sería de 5,0 a 20,0 mg, mientras que empleando metobromuro de cis-2-(3-hidroxifenil)-1-pirrolidinociclohexano sería de 1,0 a 5,0 mg. La inversión relativamente lenta de la inhibición de la enzima conseguida después

15. de la dosificación con neostignina o piridostignina, según creen algunos especialistas, es la responsable del comienzo re

415587



5. pentino de debilidad en pacientes miasténicos después de un período de tratamiento con éxito. Se cree que la debilidad se debe a la depolarización excesiva de la placa extrema del músculo. Estos dos nuevos compuestos son de una acción mas comparable con el edrofonio (v.g., no pueden formar bandas covalentes con la enzima) y, por lo tanto, no pueden provocar recaídas similares en un tratamiento prolongado. Al no producirse recaída, estos dos compuestos ofrecen ciertas ventajas.

10. Las composiciones farmacéuticas pueden adoptar la forma apropiada para administración por vía oral (como en el tratamiento de la miastenia) o una forma apropiada para administración parenteral (según se emplea para invertir efectos neuromusculares de la tubocurarina). Dichas composiciones orales pueden adoptar la forma de cápsulas, tabletas, gránulos o
15. preparados líquidos como elixires, jarabes o suspensiones.

Las composiciones concebidas para administración por vía parenteral pueden adoptar la forma de preparados inyectables estériles, como soluciones en agua o excipientes salinos.

20. Por razones de conveniencia de precisión en la dosificación, las composiciones se emplean convenientemente en una forma de dosis unitaria. Para la administración por vía oral la dosis unitaria contiene de 1 mg a 20 mg del compuesto de dicha fórmula. La dosis unitaria parenteral contiene del
25. orden de 0,5 mg a 5,0 mg de dicha fórmula por 1 cc del preparado.

NOTA

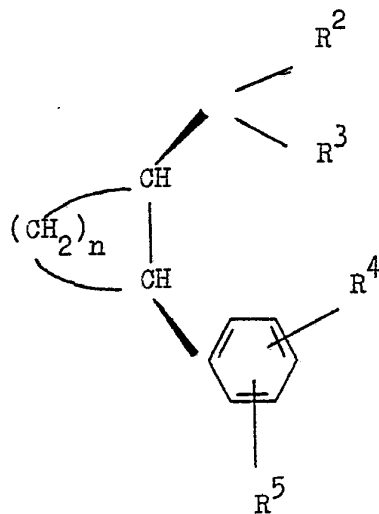
Descrita suficientemente la naturaleza del invento,



así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento

- 5. corresponde a una solicitud de Patente presentada en Gran Bretaña con el número 26603/72 de fecha 7 de junio de 1.972, accogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden Los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento por lo que se solicita Patente de
- 10. Invención por 20 años en España, sobre: "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN NUEVO COMPUESTO DE AMONIO CUATERNARIO"; caracterizándose por lo siguiente:

- 1. Procedimiento para la preparación de un nuevo compuesto de amonio cuaternario, caracterizado porque una base
- 15. de la fórmula



II

donde n es un entero de 3 a 5; R⁴ es un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un átomo de cloro, un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono o el grupo OR⁶ donde R⁶ es un acetilo, propilo, butirilo, carbamoilo, metilcarbamoilo, etilcarbamoilo,

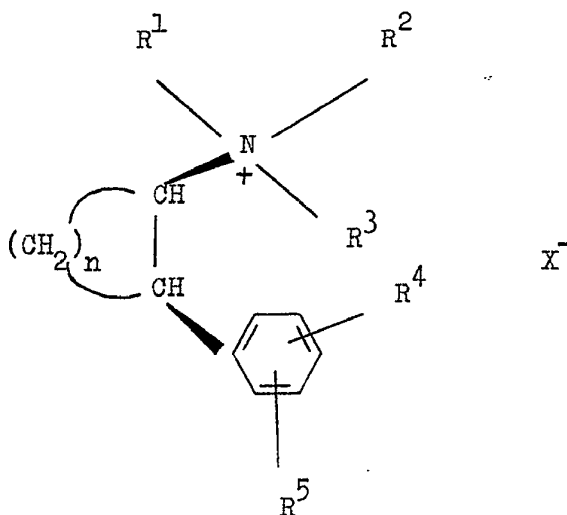
- 20.

MM

415587



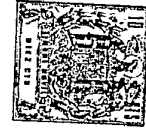
- propilcarbamoilo, dimetilcarbamoilo, dietilcarbamoilo o difenilcarbamoilo; R^5 es un átomo de hidrógeno o, cuando R^4 es un grupo hidroxilo R^5 puede representar adicionalmente un grupo metilo, un átomo de cloro o un grupo hidroxilo; y NR^2R^3 es un grupo pirrolidino o piperidino o, cuando R^4 es un grupo hidroxilo, NR^2R^3 puede representar adicionalmente un grupo dimetilamino o dietilamino; se hace reaccionar con un compuesto de la fórmula R^1X , donde R^1 es un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono y X es un átomo halógeno, o un grupo sulfato o un grupo p-toluenosulfonato, para obtener un compuesto de la fórmula
- 5.
- 10.



- donde n , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , y X tienen el significado definido anteriormente y, después, si se desea, se reemplaza el anión X^- por un anión A^- donde A es un anión aceptable para usos farmacéuticos, empleando técnicas tradicionales.
- 15.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado además porque el anión A^- es un ión de cloro, bromo, yoduro, metilsulfato o p-toluenosulfonato.

3. Procedimiento para la preparación de un nuevo



415587

compuesto de amonio cuaternario, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 20 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

31 AGO. 1976

RECKITT & COLMAN PRODUCTS LIMITED

J. GOMEZ ACEBO Y MOJER

M. p. Firmado L. Goia Fernández