

IN.-



ESPAÑA

ES

11

21

22

NUMERO

430.949

FECHA DE PRESENTACION

11-10-1.974

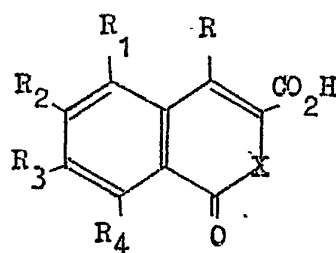
A1

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
47485/73	11-10-1.973	Inglaterra
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	B07D//A61K	
64 TITULO DE LA INVENCION		
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSICION ANTIALERGICA.		
71 SOLICITANTE (S)		
BEECHAM GROUP LIMITED		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Beecham House, Great West Road, BRENTFORD, Middlesex, Inglaterra		
72 INVENTOR (ES)		
Derek Richard Buckle; Barrie Christian Charles Cantello y Harry Smith, todos de nacionalidad británica, los cuales han cedido - sus derechos a la Compañía solicitante.		
73 TITULAR (ES)		
El mismo solicitante.		
74 REPRESENTANTE		
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU		

1 Esta invención se refiere a composiciones que son úti-
les en la inhibición de los efectos de ciertos tipos de
reacciones de antígeno-anticuerpo y son por lo tanto de va-
lor en la profilaxis y tratamiento de enfermedades asocia-
5 das con reacciones alérgicas o inmunológicas, por ejemplo,
ciertos tipos de asma y fiebre del heno, y también en el
tratamiento de rinitis. Un número de los compuestos que com-
prenden esas composiciones son originales, y se suministra
un método para su preparación.

10 Hemos descubierto que una clase de compuestos de fórmu-
la general (I):



(I)

15 o una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable, en la
cual X es O, S, o NH, R es hidrógeno o un grupo alquilo;
20 R₁, R₂, R₃ y R₄ son independientemente hidrógeno o alqui-
lo, alcoxi, arilo, aralquilo, heterocíclico, halógeno, gru-
pos ácido carboxílico o sal farmacéuticamente aceptable, es-
ter o amida derivadas de grupos ácido carboxílicos o grupos
25 aciloxi, y dos cualquiera de R₁, R₂, R₃ y R₄ tomados juntos
pueden representar el residuo sustituido o insustituido de
un sistema carbocíclico o de un sistema de anillo hetero-
cíclico, que tienen actividad útil en mamíferos en los que
30 pueden inhibir los efectos de ciertos tipos de reacciones
de antígenos-anticuerpos. En particular, parece que inhiben

1 la aparición de sustancias mediadoras, tal como histamina, que normalmente se liberan después de combinaciones de antígeno-anticuerpo y que parecen mediar en la respuesta alérgica.

5 Una investigación de la literatura química ha revelado que no todos de esos compuestos son originales. Abajo, se presenta una relación de los compuestos de fórmula (I) - que hemos encontrado en la literatura, junto con la referencia apropiada:

- 10 Isocumarin-3-ácido carboxílico (ref.1).
4-Metilisocumarin-3-ácido carboxílico (ref-2)
.. 6,7-Dimetoxiisocumarin-3-ácido carboxílico (ref.3)
Isocarbostiril-3-ácido carboxílico (ref-4)
4-metilisocarbostiril-3-ácido carboxílico (ref.4)
15 6,7-Dimetiloxicarbostiril-3-ácido carboxílico (ref.3).
2-Tiaisocumarin-3-ácido carboxílico (ref.4)
4-Metil-2-tiaisocumarin-3-ácido carboxílico (ref.4).
20 6,7-Dimetoxi-2-tiaisocumarin-3-ácido carboxílico (ref.5).
7,8-Dimetoxicumarin-3-ácido carboxílico (ref.6).

REFERENCIAS

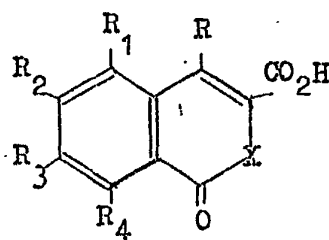
- 25 1. Boll. Acad. Sedute Gioenia Sci. Nat. Catania, (1960), 6 , 625, F. Duro y P. Condorelli.
2. Boll. Acad. Sedute Gioenia Sci. Nat. Catania, (1960), 6, 606, F. Duro y P. Condorelli.
3. J. Ind. Chem. Soc., (1966), 43, 633.
J.N.Chatterjea, H.C. Jha y B.K. Banérjec.
30 4. J.Chem. Soc., (1951), 1213.

D.J. Dijkstra, G.T. Newbold.

- 1 5. J. Chem. Soc., (1952), 4397. J. J. Brown,
G. T. Newbold.
6. J. Gen. Chem. U.S.S.R. (1958) 28, 2547,
L. I. Linevich.

5 Aunque los compuestos de arriba han sido recopilados
en la literatura, no se les ha atribuido ninguna forma de
actividad biológica útil. Además, no hay en la literatura
ninguna insinuación de que dichos compuestos, probablen-
te, posean alguna forma de actividad biológica útil, y en
10 particular el descubrimiento de que tienen actividad anti-
alérgica no ha sido predicho en ningún sentido.

Por lo tanto, en su aspecto más amplio, la presente in-
vención suministra una composición farmacéutica teniendo
15 actividad anti-alérgica que comprende un compuesto de la
fórmula (I):



(I)

20 6 una sal farmacéuticamente aceptable,
en la que, junto con uno o más portadores farmacéuticamente
25 aceptables en cuya fórmula X es O, S o NH, R es hidrógeno
o un grupo alquilo; R₁, R₂, R₃, y R₄ son independientemente
hidrógeno, alquilo, alcoxilo, arilo, aralquilo, heterocíclico,
halógeno, grupos ácido carboxílico o sal farmacéuticamente
30 aceptable, éster o amida derivados de grupos ácido carbo-
xílico o grupos aciloxilo, y dos cualquiera de R₁, R₂, R₃ y

1 R₄ tomados juntos, pueden representar el residuo sustitui-
do o insustituido de un sistema carbocíclico o de un siste-
ma de anillo heterocíclico, estando dicha composición en
5 una forma apropiada para la administración a seres humanos.

El grupo R en compuestos de la fórmula (I) es hidróge-
no o un grupo alquilo. Ejemplos de grupos alquilo apropiados
incluyen grupos metil, etil, n- e iso-propil, n- sec- o
terc- butil, ciclohexil, ciclopentil y cicloheptil.

10 Ejemplos de los grupos R₁, R₂, R₃, y R₄ que pueden es-
tar presentes en los compuestos de esta invención, inclu-
yen metil hidrógeno, etil, n- e iso-propil, n- sec- y terc-
butil, ciclohexil, metoxi, etoxi, n- e iso-propoxi, n-,
sec- y terc-butoxi; fenil; bencil; piridil y tetrazolil;
15 fluor, cloro, bromo, y iodo; carboxil, alcoxil-carbonil,
aciloximetoxil-carbonil, α -aciloximetoxil-carbonil y grupos
acetoxil. En adición, dos cualquiera de los grupos adyacen-
tes R₁ y R₂, R₂ y R₃, R₃ y R₄ tomados juntos pueden re-
presentar el residuo de un 1,2 - fenileno o un anillo de
20 1,2 - ciclohexileno.

Preferentemente R, R₁ y R₄ son hidrógeno y R₂ y R₃
son separadamente metoxi, etoxi, n- propoxi o iso- propoxi.

Hemos encontrado que generalmente los compuestos más
interesantes de la fórmula (I) son aquellos donde X es O o
25 S.

Ejemplos de compuestos específicos que pueden ser in-
corporados en las composiciones de la presente invención
incluyen los siguientes ácidos y sus sales farmaceutica-
mente aceptables:

- 1 Isocumarin-3-ácido carboxílico
- 4-Metilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 8-Metilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 4,8-Dimetilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 5 7-Metoxisocumarin-3-ácido carboxílico
- 7-Bromoisocumarin-3-ácido carboxílico
- 4,6,7-Trimetilisocumarin-3-ácido carboxílico
monohidrato
- 6,7-Dimetoxisocumarin-3-ácido carboxílico
- 10 Isocarbostiril-3-ácido carboxílico
- 4-Metilisocarbostiril-3-ácido carboxílico
- 6,7-Dimetoxisocarbostiril-3-ácido carboxílico
- 2-Tiaisocumarin-3-ácido carboxílico
- 4-Metil-2-Tiaisocumarin-3-ácido carboxílico
- 15 6,7-Dimetoxi-2-tiaisocumarin-3-ácido carboxílico
- 7,8-Dimetoxisocumarin-3-ácido carboxílico
- Sales apropiadas, farmacéuticamente aceptables, del compuesto (I) incluyen sales metálicas tal como sales só-
dicas, potásicas, aluminicas o cálcicas, sales con bases
20 orgánicas tal como aminas o compuestos amino.

Los compuestos de esta invención pueden presentarse como un polvo microfino para insuflación; por ejemplo, como inhalador o en cápsulas de gelatina dura. Pueden presentarse también junto con un portador líquido estéril para inyección. Alguno de los compuestos de fórmula (I) cuando se administran por vía oral, son activos, y en tales casos las composiciones de la invención pueden ser en forma de tabletas, cápsulas, píldoras o jarabes. Las composiciones de esta invención, se presentan preferentemente, en forma de dosis única, ó o en una forma en la que el pa-

25

30

1 ciente puede administrarse por sí mismo una dosis simple.
Si se desea, una pequeña cantidad de un compuesto bronco-
dilatador, tal como isoprenalina, puede incorporarse al
5 compuesto tanto para inhibir la respuesta de tos, si se
insuflase el compuesto, y para proveer inmediato alivio
durante un ataque asmático. La dosis efectiva del compues-
to (I) depende del compuesto particular escogido, pero se
encuentra generalmente en el rango de desde 0,1 mg/kg./día
a 100 mg/kg/día.

10 La identidad precisa del portador farmacéutico no es
importante y puede seguirse la práctica farmacéutica co-
rriente. ..

Se cree que son originales muchos de los compuestos de-
finidos arriba con respecto a la fórmula (I). Por lo tan-
15 to, la presente invención incluye en su campo tales com-
puestos originales, los cuales son aquellos de la fórmula
(I), tal como se han definido antes aquí, y las sales de
los mismos farmacéuticamente aceptables, excluyendo los
siguientes compuestos y sus sales farmacéuticamente acep-
20 tables:

Isocumarin-3-ácido carboxílico

4-Metilisocumarin-3-ácido carboxílico

6,7-Dimetoxiisocumarin-3-ácido carboxílico

Isocarbostiril-3-ácido carboxílico

25 4-Metilisocarbostiril-3-ácido carboxílico

6,7-Dimetiloxiisocarbostiril-3-ácido carboxílico

2-Tiaisocumarin-3-ácido carboxílico

4-Metil-2-Tiaisocumarin-3-ácido carboxílico

6,7-Dimetoxi-2-Tiaisocumarin-3-ácido carboxílico

30 7,8-Dimetoxicumarin-3-ácido carboxílico

1 Las identidades y valores preferentes de los grupos
R, R₁, R₂, R₃ y R₄ son tal como se explicaron anteriormente
en la especificación con respecto a las composiciones farma-
ceuticas de la invención, con el requisito de que no pue-
5 den ser tales que el compuesto resultante de la fórmula (I)
sea uno de aquellos compuestos conocidos específicamente
nombrados en el párrafo precedente.

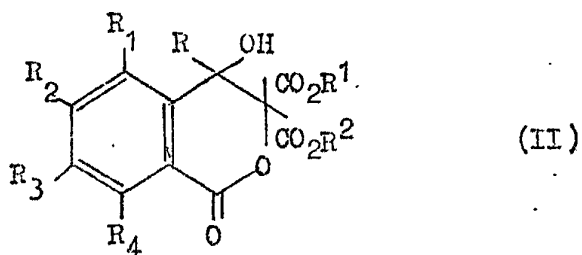
Ejemplos específicos de tales compuestos originales de
la fórmula (I) incluyen los siguientes compuestos y sus
10 sales farmacéuticamente aceptables:

- 8-Metilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 4,8-Dimetilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 7-Metoxilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 7-Bromoisocumarin-3-ácido carboxílico
- 15 4,6,7-Trimetilisocumarin-3-ácido carboxílico
monohidrato

Los compuestos originales de la fórmula (I) pueden pre-
pararse por varios métodos diferentes, dependiendo de la
naturaleza del grupo X.

20 Cuando X es O, los compuestos pueden prepararse por una
procedimiento el cual comprende obligatoriamente un com-
puesto de la fórmula II:

25

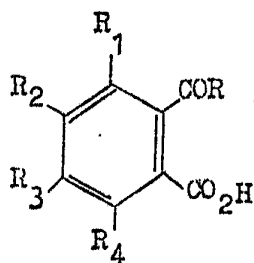


30

1 mediante una hidrólisis ácido en donde R, R₁, R₂, R₃ y
R₄ son tal como se define en relación a la fórmula (I)
con tal de que sean estables bajo las condiciones de hidro-
lisis ácida escogida y R₁ y R₂ son, separadamente, un re-
5 siduo ester susceptible a una hidrólisis ácida y después
si se desea convirtiendo el compuesto carboxílico libre de
la fórmula (I) formado de este modo en una sal farmacéutica-
mente aceptable.

10 Esta reacción, puede ser llevada a cabo apropiadamente,
mediante reflujo del compuesto escogido de la fórmula (II)
con una mezcla concentrada de ácido clorhídrico -ácido
acético.

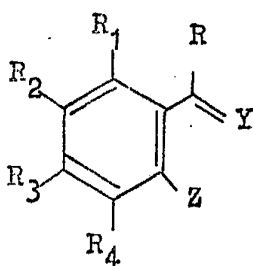
15 El intermedio requerido de la fórmula (II) puede pre-
pararse por la reacción del correspondiente compuesto sus-
tituido de la fórmula (III):



(III)

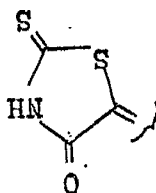
20 con dietil bromomalonato bajo condiciones alcalinas.

25 Cuando X es S y de nuevo cuando X es O, los compuestos
nuevos de la fórmula (I) puede prepararse mediante un pro-
cedimiento el cual incluye el reaccionar un compuesto de la
fórmula (IV):



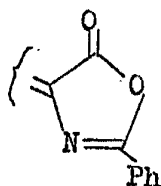
(IV)

con un alcali; en la fórmula (IV) R, R₁, R₂, R₃ y R₄ son como se definió en relación a la fórmula (I), Z es un carboxilo o un grupo carboxilo esterificado, e Y es o un grupo de la fórmula (V):



(V)

en cuyo caso X es S en el compuesto resultante de la fórmula (I), o un grupo de la fórmula (VI):



(VI)

en cuyo caso X es O en el compuesto resultante de la fórmula (I); y por lo tanto si se desea convertir la sal así formada de un compuesto de la fórmula (I) en una sal alternativa o en el correspondiente compuesto de carboxi libre.

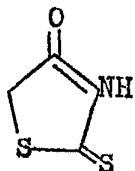
1 Un alcali apropiado es hidróxido sódico.

Quando Z es un grupo carboxilo esterificado, es conveniente un grupo $-\text{CO}_2\text{R}^4$, donde R^4 es un grupo alquilo C₁₋₆ tal como grupo metilo o etilo.

5 Hemos encontrado que esta reacción generalmente prosigue más satisfactoriamente cuando Y es un grupo de la fórmula (V), rindiendo un compuesto de la fórmula (I) donde X es S.

10 Los intermedios de la fórmula (IV) pueden prepararse del correspondiente compuesto de la fórmula (III), tal como se ha definido antes aquí, o un alquil ester del mismo, por reacción del compuesto escogido de la fórmula (III) bien con un compuesto de la fórmula (V)¹:

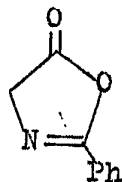
15



(V)¹

20

o un compuesto de la fórmula (VI)¹:



(VI)¹

25

La reacción con un compuesto de la fórmula (VI)¹ rendirá, por supuesto, un intermedio de la fórmula (IV) donde Y es un grupo de fórmula (V). Similarmente, la reacción con

30

1 un compuesto de la fórmula (VI)¹ rendirá un intermedio de la fórmula (IV) donde Y es un grupo de fórmula (VI).

5 Cuando X es NH, los compuestos de la fórmula (I) pueden prepararse por un procedimiento el cual comprende el tratamiento del correspondiente compuesto de la fórmula (I) donde X es O o S, con amoníaco, y después si se desea formar una sal alternativa o el correspondiente compuesto carboxi libre.

10 Este procedimiento se lleva a cabo adecuadamente, como un paso adicional en los dos procedimientos aquí anteriormente descritos para la preparación de los compuestos de la fórmula (I) donde X es O o S, los cuales son, por supuesto, los intermedios en esta reacción.

15 Los siguientes ejemplos ilustran la preparación de algunos de los compuestos de la fórmula (I), e ilustran, así mismo, la actividad biológica de tales compuestos.

EJEMPLO 1

Isocumarin - 3- ácido carbosílico.

20 Una mezcla de 2- carboxibenzaldehído (20,0 g.), dietil bromomalonato (20,0 g.) y carbonato potásico anhidro (20,0 g.) en etil metil-cetona (200 ml.) se calienta bajo reflujo, con agitación durante 5 horas. La mezcla enfriada se evapora a sequedad y se le añade el residuo 300 ml. de agua.

25 Después de la extracción con una mezcla de eter-cloroformo, los extractos orgánicos se lavan con agua, se secan y se evaporan a sequedad. El residuo sólido se calienta a reflujo con una mezcla de ácido clorhídrico (360 ml.) - ácido acético (240ml.) durante dos horas. Después de enfriarse se vierte la mezcla en agua helada (1.200 ml.). La

30

1 filtración dió un producto sólido blanco, p. de fusión
241-2^a (p. de fusión lit. 239-240^a), (Hallado: C, 62,87;
H, 3,39. $C_{10}H_6O_4$ requerido C, 63,16; H, 3,18).

5 Ejemplo 2

4-Metilisocumarin - 3 - ácido carboxílico

Una mezcla de ácido 2- acetilbenzoico (6,21 g.) dietil
bromomalonato (9,0 g.) e hidróxido potásico (2,12 g.) en
10 etanol (50 ml.) se calienta a reflujo durante 6 horas. La
mezcla enfriada se evapora a sequedad, se le añade agua
(100 ml.) y se extrae con éter. Los extractos etéreos
combinados se lavan con agua, se secan y evaporan a se-
quedad. Se calienta el residuo a reflujo con una mezcla
15 de ácido clorhídrico (160 ml.) - ácido acético (100 ml.)
durante dos horas, se enfría y se vierte en agua helada
(1 litro). La filtración dió un producto sólido blanco,
p. de fusión 250 -2^a, (p. de fusión lit. 248 -9^a)
(Hallado: C, 64,59; H, 4,01. $C_{11}H_8O_4$ requerido C, 64,70;
H, 3,95).

20 EJEMPLO 3

8-Metilisocumarin - 3 - ácido carboxílico

8- Metilisocoumarin - 3 - ácido carboxílico, p. de
25 fusión (EtOH-H₂O) (236-7^a), (Hallado: C, 64,66; H, 3,95.
 $C_{11}H_8O_4$ requerido C, 64,70; H, 3,95), se prepara a par-
tir de 2 - carboxi - 3 - metilbenzalohido por un pro-
cedimiento análogo al que se describe en el Ejemplo 1.

1 EJEMPLO 4

4,8 - Dimetilisocumarin - 3 - ácido carboxílico

4,8 - Dimetilisocumarin - 3 - ácido carboxílico, p. de fusión (EtOH - ClH diluido) 237-9º, Hallado: C, 66,33; H, 4,77. $C_{12}H_{10}O_4$ requerido C, 66,05; H, 4,62) se prepara a partir de 2 - acetyl - 6 - ácido metilbenzoico por un procedimiento análogo al que se describe en el Ejemplo 2.

5 EJEMPLO 5

10 7 - Metoxisocumarin - 3 - ácido carboxílico

7 - Metoxisocumarin - 3 - ácido carboxílico, p. de fusión (EtOH) 280-3º, (Hallado: C, 60,11; H, 3,93. $C_{11}H_8O_5$ requerido C, 60,00; H, 3,66) se prepara a partir de 2-carboxi-4-metoxibenzaldehido por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 1.

15 EJEMPLO 6

7 - Bromoisocumarin - 3 - ácido carboxílico

7 - Bromoisocumarin - 3 - ácido carboxílico, p. de fusión (EtOH-H₂O) 320-4º, (Hallado: c, 44,72; H, 1,86; Br. 29,41. $C_{10}H_5BrO_4$ requerido C, 44,64; H, 1,87; Br. 29,70), se prepara a partir de 4-bromo-2-carboxibenzaldehido por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 1.

20 EJEMPLO 7

4,6,7 - Trimetilisocumarin - 3 - ácido carboxílico monohidrato

25 4,6,7 - Trimetilisocumarin - 3 - ácido carboxílico monohidrato, p. de fusión (EtOH-H₂O) 241º, (Hallado:

30

1 C, 62,27; H, 5,74. $C_{13}H_{12}O_4 \cdot H_2O$ requerido C, 62,39; H, 5,64) se prepara a partir de 2 - acetil - 4,5 - ácido dimetilbenzoico por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 2.

5 EJEMPLO 8

6,7 - Dimetoxiisocumarin - 3 - ácido carboxílico

6,7 Dimetoxiisocumarin - 3 - ácido carboxílico p. de fusión 295-7^o, (p. de fusión lit 295-6^o), (Hallado: C, 57,31; H, 4,03. $C_{12}H_{10}O_6$ requerido C, 57,60; H, 4,03), se prepara a partir de 2 - carboxi - 4,5 - dimetoxibenzaldehido (ácido m- opianico) por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 1.

15 EJEMPLO 9

Isocarbostiril - 3 - ácido carboxílico

Se añade Isocumarin - 3 - ácido carboxílico (1,40 g.) a una solución de amoniaco (d. 0,88, 10 ml.) en etanol (40 ml.) a 0^o y se deja en reposo durante 24 horas. Después de eliminar el disolvente a vacío, se añade ácido clorhídrico 6N (70 ml.) y se deja en reposo durante 1 hora a 0^o. La filtración dió un producto sólido blanco, p. de fusión 327-330^o (p. de fusión lit 326-8^o), (Hallado : C, 62,91; H, 3,69; N, 7,46. $C_{10}H_7NO_3$ requerido C, 63,49; H, 3,73; N, 7,40).

25 EJEMPLO 10

4 - Metilisocarbostiril - 3 - ácido carboxílico

4 Metilisocarbostiril - 3 - ácido carboxílico, p. de fusión (AcOH) 336-340^o (d) (P. de fusión lit. 335-6^o), (Hallado: C, 65,18; H, 4,52; N, 6,41. $C_{11}H_9NO_3$ requerido

1 C, 65,02; H, 4,46; N, 6,89), se prepara a partir de
4 - Metilisocoumarin - 3 ácido carboxílico por un procedi-
miento análogo al descrito en el Ejemplo 9.

5 EJEMPLO 11

6,7 - Dimetilisocarbostiril - 3 - ácido carboxílico

6,7 - Dimetilisocarbostiril - 3 - ácido carboxílico
p. de fusión (AcOH) 316-8º (p. de fusión lit. 313-4º) se
obtiene como un sólido higroscópico, a partir de la reac-
10 ción de 6,7-Dimetoxisocoumarin - 3 - ácido carboxílico
con amoníaco en etanol a 50º, por un procedimiento análogo
al descrito en el Ejemplo 9.

EJEMPLO 12

15 2 - Tiaisocúmarin - 3 - ácido carboxílico

Una mezcla de 5- (o-carboxibenzilidina) rodanina
(4,68 h.) e hidróxido sódico (5,0 g.) en agua (40 ml.)
se calienta a reflujo durante 30 minutos, se enfría y se
vierte en ácido clorhídrico 5N (250 ml.). La filtración
20 y recristalización da el producto sólido blanco, p. de
fusión 260,5-261º. (p. de fusión lit. 261-3º), (Hallado;
D, 58,10; H, 2,92; S, 15,41. $C_{10}H_6SO_3$ requerido C, 58,24;
H, 2,93; S, 15,55.)

25 EJEMPLO 13

4 - Metil - 2 - Tiaisocoumarin - 3 ácido carboxílico

4 - Metil - 2 - Tiaisocoumarin - 3 - ácido carboxílico,
p. de fusión (EtOH-H₂O) 250,5-251,5º (p. de fusión lit.
243-5º), (Hallado: C, 60,40; H, 3,98; S, 14,80, $C_{11}H_8SO_3$,
30 requerido C, 59,99; H, 3,66; S, 14,56) se prepara a partir

1 de 5- (o-carboxi- -metilbenzilidina) rodanina por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 12.

EJEMPLO 14

5 6,7-Dimetoxi-2-Tiaisocumarin - 3 - ácido carboxílico

6,7-Dimetoxi-2-Tiaisocumarin - 3 - ácido carboxílico, p. de fusión (EtOH) 300-2º, (p. de fusión bibliograf 306-7º) (Hallado: C, 54,03; H, 3,80; S, 11,83; $C_{12}H_{10}SO_5$ requerido C, 54,13; H, 3,79; S, 12,04) se prepara a partir de 10 5- (2'-carboxi-4', 5'-dimetoxibenxilidina) rodanina por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 12.

EJEMPLO 15

15 7,8 - Dimetoxiisocumarin - 3 - ácido - carboxílico

7,8 - Dimetoxiisocumarin - 3 - ácido carboxílico, p. de fusión 262-3º (p. de fusión lit. 261º), (Hallado: C, 57,23; H, 3,91. $C_{12}H_{10}O_6$ requerido C, 57,60; H, 4,03) se prepara a partir de 2-carboxi-3,4-dimetoxibenzaldehido (N-ácido opianico) por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 1. 20

EJEMPLO 16

RESULTADOS BIOLÓGICOS

25 Todos los compuestos preparados en los Ejemplos precedentes se someten a tests biológicos. El sistema de test es el Rat Passive Cutaneous Anaphylaxis (P.C.A.) ensayo descrito abajo en (ii).

30 (i) Se cultiva en ratas suero conteniendo anticuerpo homocitotrópico, labil al calor, por un método similar al usado por Mota. (I. Mota Immunology 1964, 2, 681)

1 Se inyectan, intraperitonealmente, ratas macho
Wistar de 250 a 300 g. con 0,5 g. de Bordetella
5 pertussis vacuno (conteniendo 4×10^{10} de organismo
muerto por ml.) y subcutaneamente con 0,5 ml. de una
emulsión de 100 mg. de ovoalbumina en 2 ml. de solu-
ción salina y 3 ml. de adyuvante Freund's incompleto.
El día 18, se sangran las ratas por punción cardiaca,
se recoge la sangre, y se separa, almacenándose el
suero a -20° , deshelándose únicamente una vez antes
10 de usarlo.

(ii) El test P.C.A. es similar al descrito por Ovary
y Bier (A. Ovary y O.E. Bier, Proc. Soc. Exp. Biol.
Med. 1952, 81, 584) y Goose y Blair (J. Goose y AMJ.
N. Blair, Immunology 1969, 16, 769).

15 0,1 ml. de cada una de seis diluciones pares seria-
das de suero en solución salina al 0,9% (suero fisió-
lógico) se inyectan intradérmicamente en zonas separa-
das de la superficie dorsal afeitada de ratas Wistar
de 250-350 g. 72 horas más tarde, se estimula a los
20 animales mediante inyección i.v. de 0,3 ml. de ovoal-
bumina al 1% mezclada con 0,1 ml. de tintura de pona-
mina azul cielo al 5%, ambas en solución salina isotó-
nica tamponada a pH 7,2 con buffer Sorenson (P.B.S.).
Después de 20 minutos se matan las ratas y se mide el
25 diámetro de las ampollas azules en los lugares donde
se inyectó el anticuerpo. Se ajusta la dilución de
comienzo del suero, de tal manera, que no haya respues-
ta después de la estimulación, en el lugar donde se
inyecta la dilución más alta y una respuesta máxima en
30

1

la de dilución mas baja.

Corrientemente, se usan seis diluciones pares seriadas de suero, desde 1/4 a 1/128.

5

Se prueban los compuestos en cuanto a su capacidad para reducir el diámetro de las ampollas en las zonas de inyección de las diluciones de anticuerpo, que a través de todos los controles, tienen una respuesta por debajo del máximo. Se administra a las ratas catidades de los compuestos, cada cantidad a un grupo de ensayo de seis animales, en un tiempo especificado anterior a la estimulación intravenosa con ovoalbúmina. Los diámetros de las ampollas azules que aparecen en el grupo de animales de los ensayos se comparan con aquellos de un grupo control de seis animales, tratados de la misma forma que los del grupo de ensayo, pero que no reciben el compuesto bajo test.

10

15

20

$$\% \text{ de Inhibición de P.C.A.} = 100 \left(1 - \frac{a}{b}\right)$$

a = La media de la suma de los diámetros de las ampollas producidas en el grupo de animales del ensayo para aquellas concentraciones (zonas) del anticuerpo en que el grupo control de animales dá una respuesta inferior al máximo.

25

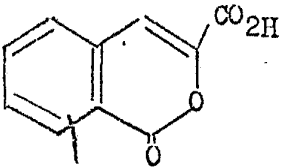
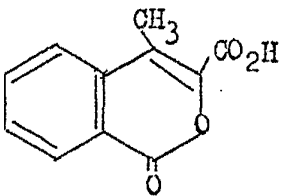
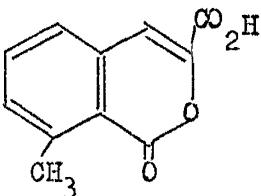
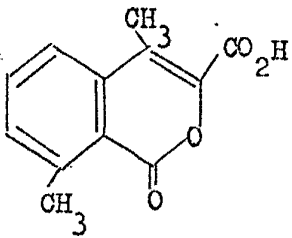
b = La media de la suma de los diámetros de las ampollas producidas en el grupo control de animales para aquellas concentraciones (zonas) del anticuerpo donde todos los animales del grupo de una respuesta inferior al máximo.

30

El método preferido de administración es una so-

lución del compuesto de ensayo disuelta en buffer de pH 7,2 y neutralizada con bicarbonato sódico.

RESULTADOS BIOLÓGICOS

<u>EJEMPLO 1</u>	<u>DOSIS (mg/Kg)</u>	<u>Tiempo (min.)</u>	<u>% Inhibición de respuestas PCA.</u>
	25	0	29
	100	0	62
	25	30	- 13
	100	30	16
<u>EJEMPLO 2</u>			
	25	0	- 3
	100	0	41
	25	30	0
	100	30	10
<u>EJEMPLO 3</u>			
	25	0	44
	100	0	66
	25	30	15
	100	30	28
<u>EJEMPLO 4</u>			
	25	0	10
	100	0	12
	25	30	8
	100	30	48

1

5

10

15

20

25

30

1

5

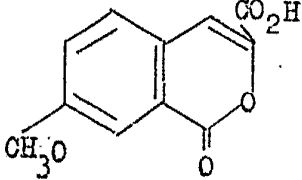
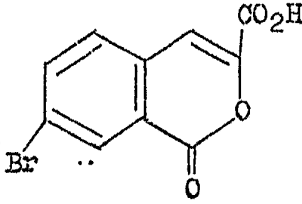
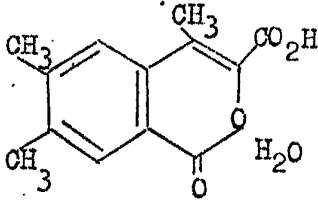
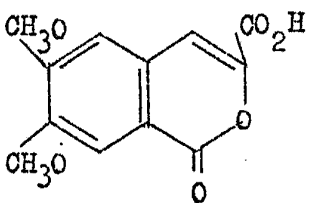
10

15

20

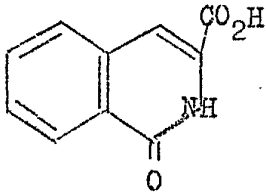
25

30

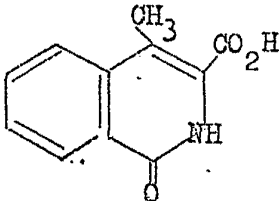
<u>EJEMPLO 5</u>	Dosis (mg/Kg.)	Tiempo (min.)	% Inhibición de respuestas PCA.
	25	0	9
	100	0	9
	25	60	4
	100	60	55
<u>EJEMPLO 6</u>			
	25	0	26
	100	0	39
	25	60	39
	100	60	0
<u>EJEMPLO 7</u>			
	25	0	10
	100	0	15
	25	30	39
	100	30	49
<u>EJEMPLO 8</u>			
	25	0	64
	100	0	84
	25	30	24
	100	30	24

1

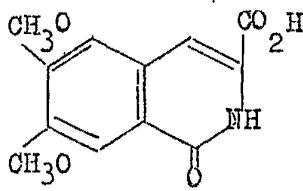
5

<u>EJEMPLO 9</u>	<u>Dosis (mg/Kg.)</u>	<u>Tiempo (min.)</u>	<u>% Inhibición de respuestas PCA.</u>
	25	0	21
	100	0	36
	25	30	15
	100	30	25

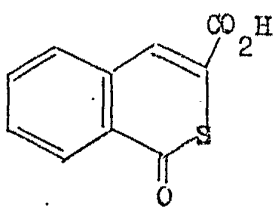
10

<u>EJEMPLO 10</u>	<u>Dosis (mg/Kg.)</u>	<u>Tiempo (min.)</u>	<u>% Inhibición de respuestas PCA.</u>
	25	0	12
	100	0	26
	25	30	13
	100	30	21

15

<u>EJEMPLO 11</u>	<u>Dosis (mg/Kg.)</u>	<u>Tiempo (min.)</u>	<u>% Inhibición de respuestas PCA.</u>
	25	0	11
	100	0	38
	25	30	2
	100	30	17

20

<u>EJEMPLO 12</u>	<u>Dosis (mg/Kg.)</u>	<u>Tiempo (min.)</u>	<u>% Inhibición de respuestas PCA.</u>
	25	0	0
	100	0	22
	25	60	4
	100	60	14

25

30

1

5

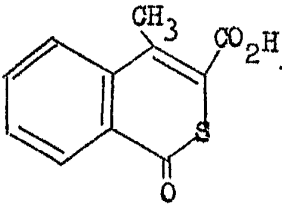
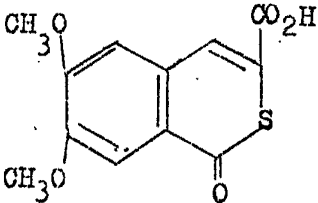
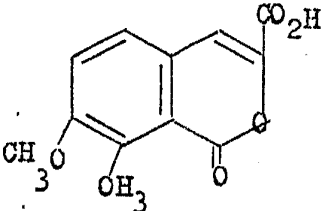
10

15

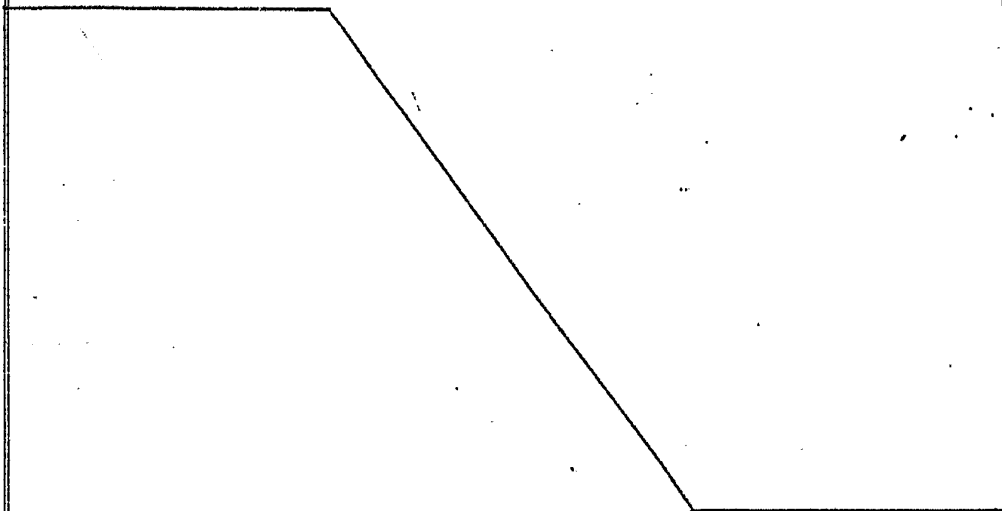
20

25

30

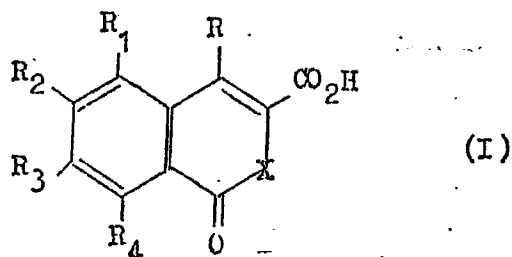
<u>EJEMPLO 13</u>	Dosis (mg./Kg.)	Tiempo (min.)	% Inhibición de respuestas PCA.
	25	0	- 6
	100	0	6
	25	60	6
	100	60	19
<u>EJEMPLO 14</u>			
	12.5	10	28
	25	10	47
	50	10	79
	100	10	87
<u>EJEMPLO 15</u>			
	25	10	64
	100	10	63
	25	30	12
	100	30	29

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:



REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de una composición antialérgica de la fórmula (I):



o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en cuya fórmula X es O, S o NH, R es hidrógeno o un grupo alquilo; R₁, R₂, R₃, y R₄ son independientemente hidrógeno o alquilo, alcoxi, arilo, aralquilo, heterocíclico, halógeno, grupos ácido carboxílico o sal farmacéuticamente aceptable, éster o amida derivados de grupos ácido carboxílico, o grupos aciloxi, y dos cualquiera de R₁, R₂, R₃ y R₄ tomados juntos puede representar el residuo sustituido o insustituido de un sistema carbocíclico o de anillo heterocíclico, con la condición, de que el compuesto de la fórmula (I) tal como se ha definido aquí anteriormente, no puede ser uno de los siguientes compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:

Isocumarin - 3 - ácido carboxílico

4-Metilisocumarin - 3 - ácido carboxílico

6,7-Dimetoxiisocumarin - 3 - ácido carboxílico

Isocarbostiril - 3 - ácido carboxílico

4-Metilisocarbostiril - 3 - ácido carboxílico

6,7-Dimetiloxiisocarbostiril - 3 - ácido carboxílico

2-Tiaisocumarin - 3 - ácido carboxílico

1

4-Metil-2-Tiaisocumarin - 3 - ácido carboxílico

6,7-Dimetoxi-2-Tiaisocumarin - 3 - ácido carboxíli

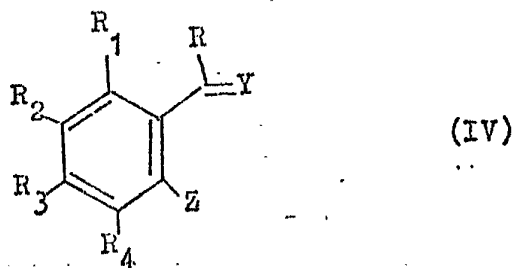
co

5

7,8- Dimetoxiisocumarin - 3 - ácido carboxílico

cuyo procedimiento comprende la reacción de un compuesto -
de la fórmula (IV):

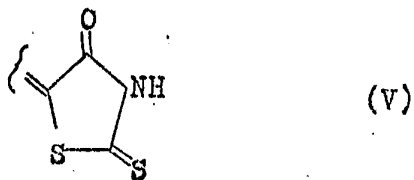
10



15

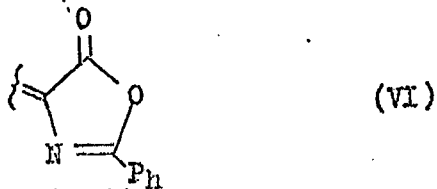
con un alcali; en la fórmula (IV) R, R₁, R₂, R₃ y R₄ son -
tal como se ha definido aquí anteriormente; Z es un grupo
carbonilo o un grupo carbonilo esterificado, e Y es o bien;
un grupo de fórmula (V);

20



en cuyo caso X es S en el compuesto resultante de la fór-
mula (I) o un grupo de fórmula (VI):

25



30

en cuyo caso X es O en el compuesto resultante de la fórmu
la (I); y después si se desea convertir el compuesto forma
do de este modo de la fórmula (I), donde X es S o O, en el
compuesto correspondiente donde X es NH por tratamiento -

1 con amoniaco; y también después, si es necesario, conver-
tir el producto en una sal alternativa farmacéuticamente -
aceptable o en el compuesto carboxi libre.

5 2. Un procedimiento según la reivindicación 1, -
adaptado para la preparación de un compuesto de la fórmula
(I) donde X es S.

10 3. Un procedimiento según la reivindicación 1 ó 2
adaptado para la preparación de un compuesto de la fórmula
(I) donde R, R₁ y R₄ son hidrógeno, R₂ y R₃ son separadamen-
te etoxi, n- o iso-propoxi, y uno de R₂ y R₃ puede ser me-
toxi.

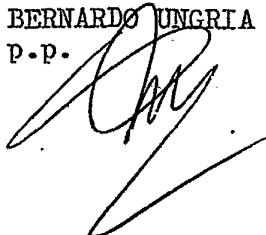
15 4. Un procedimiento según la reivindicación 1, -
adaptado para la preparación de 8-metilisocumarin-3-ácido
carboxílico, o una sal aceptable del mismo.

5. Se reivindica por último como objeto sobre el -
que ha de recaer la patente de invención que se solicita:
por: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSI-
CION ANTIALERGICA.

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente memoria descriptiva que consta de veintiseis pá-
ginas mecanografiadas.

Madrid, 11 de Octubre de 1.974

BERNARDO UNGRIA
P.P.



25

30

