

431454

17 OCT. 1975

P.- 58.927

F2111-K7b  
(BP)/MS

MEMORIA DESCRIPTIVA

Int. Cl. C07D // A 61K
------------------------

para solicitar PATENTE DE INVENCION

a nombre de

- 1) MICHIRO INOUE,
- 2) MASAYUKI ISHIKAWA,
- 3) TAKASHI TSUCHIYA y
- 4) TAKIO SHIMAMOTO

todos de nacionalidad japonesa

residentes en

- 1) 6-23-3, Kokuryo-cho, Chofu-shi;
- 2) 3-14-13, Akatsutsumi, Setagaya-ku;
- 3) 5-17-25, Minamikoiba, Edogawa-ku y
- 4) 13, Kitamachi, Shinjuku-ku, respectivamente, todos en Tokyo, Japón

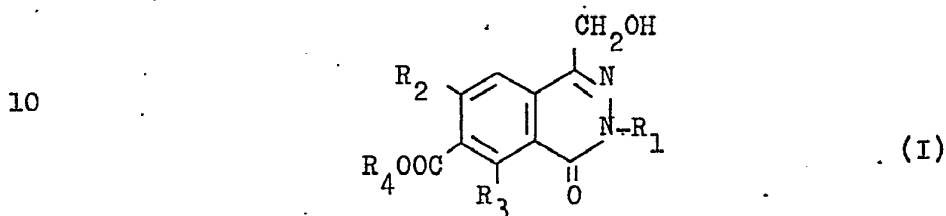
por: "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR DERIVADOS DE  
1-FTALAZONA"

7.10.75

- 1 -

La presente invención se refiere a un procedimiento para la fabricación de un nuevo derivado de l-ftalazona farmacéuticamente valioso.

De un modo más particular, la invención proporciona un procedimiento para la fabricación de un nuevo derivado de l-ftalazona representado por la fórmula general (I):

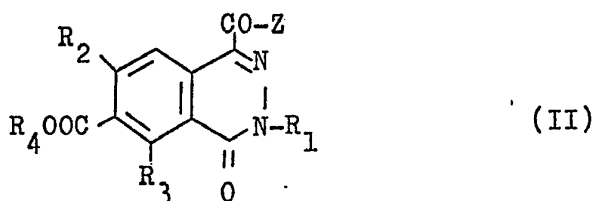


15 en la que  $R_1$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alcoholilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono; cada uno de  $R_2$  y  $R_3$  es un grupo alcoholilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono;  $R_4$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alcoholilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, con la condición  
20 de que  $R_4$  puede formar junto con  $R_3$  un grupo metileno, o un grupo metileno sustituido con metilo o etilo.

El procedimiento para la fabricación del derivado de l-ftalazona de la fórmula general (I) comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula general (II):

25

7.10.75



5

en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  son como se ha definido arriba  
 y Z es un átomo de halógeno, o un grupo azido, hidroxilo  
 10 o alcoxi, preferiblemente un grupo alcoxi que tiene de 1  
 a 5 átomos de carbono, o un grupo representado por la fórmula:



en la que R es un grupo metilo o etilo, con un hidruro metálico complejo en presencia o en ausencia de un haluro metálico.

En la memoria descriptiva de la Patente de Bélgica Núm. 787.138, se ha descrito que la 4-hidroximetil-  
 20 -1-ftalazona tiene efectos farmacéuticos en el tratamiento de las hemorragias, la trombosis y la aterosclerosis. Subsiguientemente, la Patente de Bélgica Núm. 787.139 describió que los derivados de alcoxycarbonil-4-hidroximetil-1-ftalazona tienen actividades mayores referidas a  
 25

7.10.75

los mismos efectos farmacéuticos que el compuesto descrito en la primera solicitud de patente. Las investigaciones posteriores realizadas sobre las vías metabólicas en animales y los ensayos clínicos de las 7-alcoxicarbonil-4-hidroximetil-1-ftalazona revelaron que, cuando se administra a animales y a los seres humanos, el compuesto se metaboliza a un compuesto correspondiente que tiene un grupo carboxilo en la posición 7. La hidrólisis metabólica conduce a la bio-inactivación del compuesto de alcoxicarbonilo, con el resultado de que el tiempo de duración de la acción biológica del compuesto es relativamente corto.

Se ha encontrado ahora que los compuestos de la presente invención son resistentes a la degradación metabólica y tienen actividades biológicas prolongadas, comparados con los compuestos de la técnica anterior. En el ensayo de aterosclerosis experimental inducida por la introducción de colesterol, se encontró que los compuestos de la presente invención eran altamente activos en la prevención de la aterosclerosis y en la inhibición de la deposición de colesterol en la pared arterial; su eficacia es aproximadamente de tres a cinco veces mayor que la de la técnica anterior. Los compuestos de la presente invención impiden también la exaltación de la coagulabilidad y la trombogenicidad de la sangre inducidas por el colesterol o la adrenalina; la eficacia es también apro-

ximadamente de cinco a diez veces mayor que la de la técnica anterior. Esto es, que los presentes compuestos impiden de un modo más efectivo el acortamiento del tiempo de coagulación de la sangre así como la exaltación de la agregación de las plaquetas en los seres humanos inducida por el difosfato de adenosina.

Adicionalmente, se ha encontrado que los presentes compuestos son activos para rebajar y normalizar la presión sanguínea elevada en el ensayo de hipertensión de las ratas espontáneamente hipertensas, en tanto que los compuestos de la técnica anterior no ejercen actividad alguna importante sobre la presión sanguínea elevada de las ratas. Esta actividad de los presentes compuestos puede relacionarse con su efecto de inhibición sobre la AMP fosfodiesterasa cíclica, el cual se ilustra en los ensayos Biológicos.

Los compuestos de la presente invención son útiles, por tanto, para el tratamiento de las enfermedades de hipertensión, las enfermedades de aterosclerosis y las enfermedades de trombosis. Dichos compuestos tienen también utilidad para el tratamiento de las enfermedades debidas al comportamiento anormal de la AMP cíclica, tales como el cáncer, los trastornos mentales y los trastornos neurológicos, las perturbaciones hormonales y los fallos cardíacos.

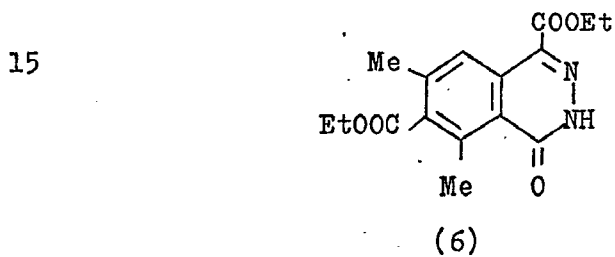
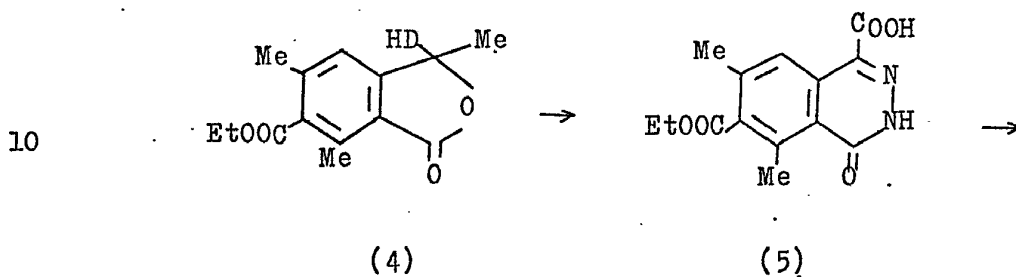
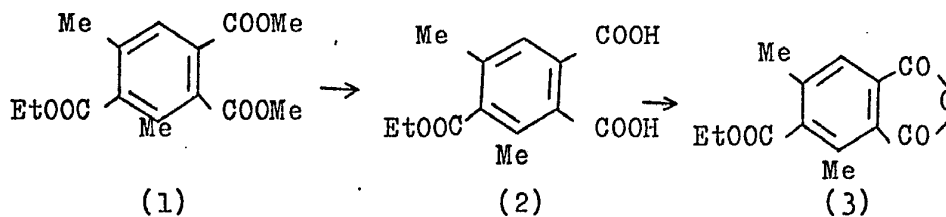
La preparación de algunos compuestos de partida de la presente invención se ilustra más adelante en esta memoria. Los números arábigos que se indican a continuación corresponden, respectivamente, a los números de los compuestos representados en el esquema de reacción siguiente.

El aducto de Diels-Alder de isodeshidroacetato de etilo y acetilendicarboxilato de dimetilo (1) [véase Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 70, 1354 (1937)] se hidroliza el ácido ftálico (2). El tratamiento de (2) con anhídrido acético produce el anhídrido ftálico (3). El tratamiento de éste último con ácido malónico en piridina (80° a 85°C) produce la 3-hidroxi-3-metilftalida (4) con un rendimiento del 60%. La oxidación de (4) en solución acuosa alcalina con permanganato de potasio y el tratamiento subsiguiente de la solución con hidrazina produce el ácido (5), el cual, a su vez, se esterifica para dar el éster (6) con un rendimiento global de 80%.

20

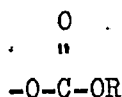
25

7.10.75



20 Si es preciso, el ácido (5) se puede convertir  
 por un método conocido en un derivado funcional de un  
 ácido carboxílico distinto de un éster. Por ejemplo, la  
 reacción del ácido (5) con cloruro de tionilo produce  
 25 cloruro de acilo  $\square$  un compuesto de la fórmula (III) en

la que Z es un átomo de cloro  $\overline{]$ , y el tratamiento posterior del cloruro de acilo con azida de sodio da lugar a la azida de acilo  $\overline{[$  un compuesto de la fórmula (III) en la que Z es un grupo azido  $\overline{]$ . Un compuesto de la fórmula (II), en la que Z es un grupo representado por la fórmula:



10

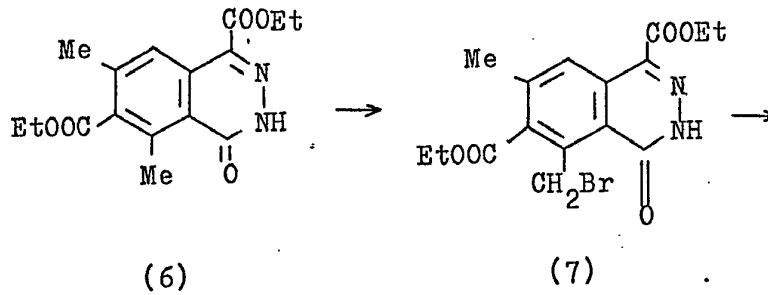
en la que R es como se ha definido arriba, puede prepararse por un método conocido, por ejemplo, haciendo reaccionar el ácido (5) con un cloroformiato de alcohol tal como cloroformiato de metilo y cloroformiato de etilo en presencia de un disolvente y un agente de deshidrocloración tal como trietilamina. El anhídrido de ácido mixto resultante se puede someter con ventaja a la reducción de la presente invención sin aislamiento ni purificación.

Alternativamente, los compuestos de partida representados por la fórmula (II), en la que  $R_4$  se une a  $R_3$  para formar un grupo metileno, o un grupo metileno sustituido con metilo o etilo, se pueden preparar de modo ventajoso como se ilustra por el esquema de reacción siguiente. La 6,8-dimetil-4,7-dietoxicarbonil-1-ftalazona (6) se somete a bromación con N-bromosuccinimida. La piró

7.10.75

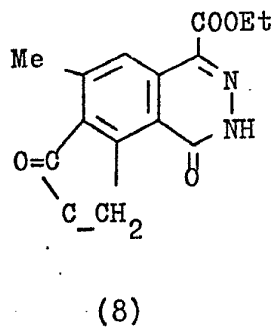
lisis del compuesto monobromado (7) produce la lactona (8) con un rendimiento satisfactorio.

5



10

15



20

25

En una realización del procedimiento de la invención, un compuesto de la fórmula (II) se hace reaccionar con un hidruro metálico complejo en presencia de un disolvente. Ejemplos del hidruro metálico complejo que se puede utilizar en la presente invención, son boro

hidruro de sodio, borohidruro de potasio, borohidruro de litio, e hidruro de aluminio y litio. Entre los hidruros metálicos complejos arriba descritos, el borohidruro de sodio es el más preferible, por el hecho de que es el más barato, más fácil de manipular y menos peligroso. El hidruro metálico complejo se utiliza en una cantidad equimolecular o en un cierto exceso, preferiblemente de 1,5 a 5 moles por mol del compuesto (II). La reacción se lleva a cabo preferiblemente en presencia de un haluro metálico tal como cloruro de calcio, bromuro de magnesio, bromuro de litio, cloruro de aluminio o yoduro de litio. Cuando se utiliza borohidruro de sodio como el hidruro metálico complejo, se tabulan a continuación el disolvente, el catalizador y la temperatura que se emplean con ventaja en el presente procedimiento, así como los rendimientos medios del procedimiento. La reacción se puede llevar a cabo usualmente a una temperatura comprendida entre  $-10^{\circ}\text{C}$  y  $+100^{\circ}\text{C}$ .

	<u>Z</u>	<u>Disolvente</u>	<u>Haluro metálico</u>	<u>Temperatura (<math>^{\circ}\text{C}</math>)</u>	<u>Rendimiento (%)</u>
20	alcoxi	etanol metanol	$\text{CaCl}_2$	$-10^{\circ} \sim +30^{\circ}$	90 a 95
	halógeno	dioxano tetra- hidrofurano	---	$0^{\circ} \sim +100^{\circ}$	50 a 80
25	-O-C-OR " O	tetra- hidrofurano dioxano	---	$-10^{\circ} \sim +50^{\circ}$	50 a 80

7.10.75

En el procedimiento arriba indicado, los productos se pueden separar y purificar con facilidad por métodos convencionales, como se ilustra en los Ejemplos que siguen.

5            Los compuestos de la presente invención se pueden administrar solos o incorporados en composiciones farmacéuticas tales como polvos, tabletas, gránulos, cápsulas, trociscos, suspensiones y otras formas de dosificación para administración oral, así como soluciones, suspensiones y otras formas de dosificación para administración parenteral. La cantidad efectiva del compuesto de la fórmula (I) puede cambiarse libremente de acuerdo con una dosis particular deseada, pero usualmente está comprendida entre aproximadamente 0,1 y 80% basada en la cantidad combinada del vehículo o diluyente y el compuesto de la fórmula (I). En resumen, aquélla puede ser cualquier concentración deseada requerida para la administración a dosis comprendidas entre 1 y 100 mg/kg de peso corporal por día.

20            El vehículo o diluyente puede ser un líquido o sólido farmacéuticamente aceptable, y se utiliza también el término vehículo en esta invención para denotar los coadyuvantes. Ejemplos del vehículo líquido son agua destilada para inyecciones, solución isotónica de cloruro de sodio, solución de Ringer, solución de Locke, polieti

lenglicol, alcohol etílico, propilenglicol, glicerina, y aceite vegetal. El vehículo sólido incluye, por ejemplo, cloruro de sodio, glucosa, lactosa, almidón, sacarosa, alcohol cetílico, manteca de cacao y espermaceti.

5 Los ejemplos que siguen ilustran la invención, pero no limitan el alcance de la misma.

Ejemplo 1

1) Preparación de 5,7-dimetil-6-etoxicarbonil-3-hidroxi-3-metilftalida.

10 Una mezcla constituida por anhídrido del ácido 4,6-dimetil-5-etoxicarbonilbenceno-1,2-dicarboxílico (7,8 g, p.f. 80 a 81°C), ácido malónico (6,5 g) secado por calentamiento a 100°C durante 10 horas, y piridina absoluta (7 ml), se calentó a una temperatura comprendida  
15 entre 80 y 85°C durante 15 horas. Después de enfriar, se añadió ácido clorhídrico acuoso al 10%, y la mezcla se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se lavó con agua, y se extrajo con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. El extracto de bicarbonato de sodio se acidificó  
20 có con ácido clorhídrico diluido, y se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre  $MgSO_4$ , y se expulsó el disolvente. El residuo resultante se recrystalizó en éter-n-hexano para dar 5,7-dimetil-6-etoxicarbonil-3-hidroxi-3-metilftalida (5,4 g, rendimiento 62%), que  
25 fundía a 118-120°C.

2) Preparación de 6,8-dimetil-4,7-dietoxicarbonil-1-ftalazona.

A una solución de 5,7-dimetil-6-etoxicarbonil-3-hidroxi-3-metilftalida (1,32 g) e hidróxido de potasio (1 g) en agua (100 ml), se añadió gota a gota una solución de  $\text{KMnO}_4$  (1,58 g) en agua (80 ml) con agitación. Después de agitar durante 1,5 horas más, se filtró el dióxido de manganeso precipitado, y el filtrado se saturó con dióxido de carbono. Se añadió a la solución hidrato de hidrazina al 80% (5 ml), y luego se calentó la solución a una temperatura comprendida entre 70 y 80°C durante 2 horas. Después de enfriar, la solución se acidificó con ácido clorhídrico diluido, y el precipitado resultante se filtró y recristalizó en metanol para dar el ácido 6,8-dimetil-7-etoxicarbonil-1-ftalazona-4-carboxílico (1,1 g), que fundía a 216-218°C.

Se calentó a reflujo el ácido 6,8-dimetil-7-etoxicarbonil-1-ftalazona-4-carboxílico con etanol absoluto y ácido sulfúrico concentrado, y el tratamiento de la mezcla de una manera usual proporcionó 6,8-dimetil-4,7-dietoxicarbonil-1-ftalazona, que fundía a una temperatura comprendida entre 159 y 161°C, con un rendimiento de 90 a 95%.

3) Preparación de 6,8-dimetil-7-etoxicarbonil-4-hidroximetil-1-ftalazona.

A una solución agitada de borohidruro de sodio (500 mg) en etanol (200 ml), se añadió por porciones 6,8-dimetil-4,7-dietoxicarbonil-1-ftalazona (1,4 g) a una temperatura comprendida entre -5 y 0°C, y a continuación se añadió una solución de cloruro de calcio anhidro (700 mg) en etanol (200 ml), gota a gota a la solución anterior. Se continuó la agitación durante 3 horas más a la misma temperatura, y se dejó en reposo la mezcla de reacción durante la noche a la temperatura ambiente. Se concentró la mezcla a presión reducida y se diluyó con agua, ajustándose su valor de pH a 5 con ácido acético. El precipitado resultante se filtró y se recristalizó en etanol-agua para dar 6,8-dimetil-7-etoxicarbonil-4-hidroximetil-1-ftalazona (1,2 g), que fundía a 171-172°C, cuyos espectros se muestran a continuación.

Espectro ultravioleta: (EtOH), mp: 218 ( $\epsilon = 57000$ ), 259 ( $\epsilon = 15000$ ), 292 ( $\epsilon = 11800$ ), 307 ( $\epsilon = 9600$ ), 321 ( $\epsilon = 7400$ )

Espectro infrarrojo: (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3400 (ancho), 2920, 1730, 1650, 1600, 1450, 1280, 1250, 1150, 1120, 1030 (ancho), 900

Espectro de R.M.N.: (medido en sulfóxido de dimetilo- $d_6$ ): 1,25 (t, 3H), 2,4 (s, 3H), 2,69 (s, 3H), 4,25 (c, 2H), 4,7 (d, 2H), 5,2 (t, 1H), 7,55 (s, 1H).

Análisis, calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2$ : C, 60,86; H, 5,84; N, 10,14

Encontrado: C, 60,78; H, 5,80; N, 10,34

### Ejemplo 2

En una secuencia de reacción análoga a la del Ejemplo 1, a partir del aducto Diels-Alder de isodeshidroacetato de metilo y acetilendicarboxilato de dimetilo, se prepararon los siguientes compuestos intermedios y la 6,8-

5

-dimetil-7-metoxicarbonil-4-hidroximetil-1-ftalazona:

anhídrido del ácido 4,6-dimetil-5-metoxicarbonil-benceno-1,2-dicarboxílico: p. f. 129° a 131°C (recristalizado en acetato de etilo-n-hexano);

10

5,7-dimetil-6-metoxicarbonil-3-hidroxi-3-metil ftalida: p.f. 104° a 106°C (recristalizada en acetato de etilo--n-hexano);

6,8-dimetil-7-metoxicarbonil-4-carboxi-1-ftalazona: p.f. 221° a 223°C (recristalizada en metanol);

15

6,8-dimetil-4,7-dimetoxicarbonil-1-ftalazona: p. f. 240° a 241°C (recristalizada en metanol);

20

6,8-dimetil-4-hidroximetil-7-metoxicarbonil-1-ftalazona: p.f. 204° a 205°C (recristalizada en metanol), espectro de R.M.N. (medido en sulfóxido de dimetilo-d<sub>6</sub>): 2,4 (s, 3H), 2,7 (s, 3H), 3,95 (s, 3H), 4,6 (d, 2H), 5,3 (ancho, 1H), 7,8 (s, 1H).

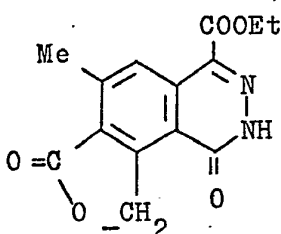
### Ejemplo 3

El compuesto de la fórmula (I), en el que R<sub>2</sub> es metilo, y R<sub>4</sub> forma junto con R<sub>3</sub> un grupo metileno, se pre

paró por la siguiente secuencia de reacción.

Una solución de 6,8-dimetil-4,7-dietoxicarbonil-1-ftalazona (3,2 g), N-bromosuccinimida (1,9 g) y peróxido de benzoílo (100 mg) en tetracloruro de carbono (200 ml) se calentó a reflujo durante 2 horas. Después de la evaporación del disolvente, el residuo resultante se extrajo con acetato de etilo. El extracto se lavó con agua, y se expulsó el disolvente. El residuo se recristalizó en acetato de etilo para dar la 8-bromometil-4,7-dietoxicarbonil-6-metil-1-ftalazona (2,86 g) que fundía a 185° - 190°C.

El compuesto bromado (1,2 g) arriba descrito se calentó a vacío a una temperatura comprendida entre 185 y 190°C durante cuarenta minutos en un baño de aceite. La masa sólida resultante se recristalizó en acetona para dar el compuesto de la estructura siguiente (8) con rendimiento cuantitativo. Dicho compuesto no fundía a 300°C.



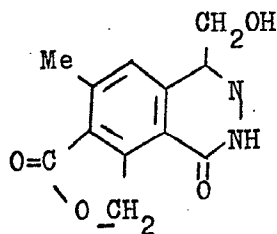
(8)

7.10.75

5 A una solución agitada de borohidruro de sodio (45 mg) en etanol (60 ml), se añadieron gota a gota 112 mg del compuesto de (8) arriba descrito a una temperatura comprendida entre -5° y 0°C, y luego se añadió gota a gota una solución de cloruro de calcio anhidro (50 mg) en etanol (40 ml) a la solución anterior. La solución resultante se agitó durante 3 horas más a la temperatura ambiente y se concentró luego a presión reducida a un volumen de aproximadamente 20 ml. El concentrado se diluyó con agua, y después de ajustar su valor de pH a 4-5 con ácido clorhídrico diluido, se extrajo con acetato de etilo. El disolvente se separó del extracto; y el residuo se recristalizó en acetona para dar 78 mg del compuesto de la estructura siguiente (12):

15

20



(12)

25

7.10.75

Sus propiedades físicas se indican abajo:

Punto de fusión: no fundía a 300°C.

Espectro infrarrojo (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3400 (ancho),  
1760, 1640, 1610, 1355.

5 Espectro de R.M.N.: (medido en sulfóxido de di-  
metilo- $d_6$ ): 2,75 (s, 3H), 4,7 (s, 2H),  
5,45 (ancho, 1H), 5,7 (s, 2H), 8,05  
(s, 1H), 12,9 (s, 1H).

Espectro de masas: 246 ( $M^+$ ).

10 Ensayos Biológicos

1) Efecto de los presentes compuestos en la prevención  
de la agregación de las plaquetas humanas in vitro

15 Los compuestos de la presente invención muestra-  
ron un efecto pronunciado en la prevención de la agrega-  
ción de las plaquetas humanas inducida por ADP (difosfato  
de adenosina) o por adrenalina, in vitro.

20 Muestras de PRPC humano (plasma rico en plaque-  
tas citrado) se incubaron a 37°C durante 200 segundos con  
1/10 de su volumen de solución salina que contenía diver-  
sas cantidades del compuesto a ensayar. Se añadió luego a  
la mezcla ADP (3 micromoles) o adrenalina (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). La  
intensidad de la agregación primaria y secundaria se mi  
dió con un medidor de agregación de plaquetas (Chrono-  
Log, Modelo 300).

25 La intensidad de la agregación inducida por  
ADP o por adrenalina en cada muestra que se incubó con  
el compuesto, se comparó con la de la misma muestra in-

7.10.75

cubada con solución salina. La proporción se expresó como un porcentaje de la intensidad de agregación con el compuesto comparado con el valor correspondiente al empleo de solución salina. Los resultados se muestran en la Tabla I siguiente.

La intensidad de la agregación primaria y secundaria de las plaquetas se midió por el procedimiento descrito en H. Yamazaki, T. Sano, y otros; título [Platelet Functions in Thromboembolic Disorders] Thrombosis et Diatheses Haemorrhagica, "en prensa", y en las referencias citadas en dicho trabajo.

Como se muestra en la Tabla I, el presente compuesto inhibió la agregación primaria inducida por ADP ó por adrenalina, con una actividad aproximadamente semejante a la de la 4-hidroximetil-1-ftalazona (el compuesto de la Patente de Bélgica Núm. 787.138) y 7-etoxicarbonil-4-hidroximetil-1-ftalazona (el compuesto de la Patente de Bélgica Núm. 787.139). Sin embargo, el compuesto de la presente invención inhibió mucho más eficazmente la agregación secundaria, comparado con los compuestos anteriores. Es decir, que los presentes compuestos inhibieron la agregación secundaria inducida por ADP ó por adrenalina en una concentración comprendida entre 1 y 2,5  $\mu\text{g/ml}$  con un significado estadístico, mientras que la 7-etoxicarbonil-4-hidroximetil-1-ftalazona inhibió la agregación secundaria en una concentración de 5 a 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Tabla I Proporción de Inhibición contra la Agregación de las Plaquetas Humanas in vitro

Incubadas con	µg/ml	Casos	ADP		Casos	3 µM		Adrenalina 1 µg/ml	
			Primaria	Secundaria		Secundaria	Primaria	Secundaria	
Acido acetilsalicílico (testigo)	300	10	108,9±3,6	75,5±5,9 ***	10	107,5±2,6	62,7±10,7 ***		
	80	10	95,7±1,8	70,2±10,1 *	10	95,6±5,2	46,6±7,9 ***		
	40	10	98,9±3,4	78,0±9,9 *	10	105,7±3,3	45,0±7,8 ***		
4-hidroximetil-l-ftalazona (testigo)	300	10	84,5±2,0 #	68,3±3,8 *	10	85,4±3,1 *	60,2±8,0 *		
	80	10	82,4±3,2	64,9±6,7	10	92,3±6,0	69,2±7,2		
	40	10	86,2±2,5	72,0±6,8	10	98,8±5,9	85,9±10,1		
7-etoxicarbonil-4-hidroximetil-l-ftalazona (testigo)	80	10	62,9±5,0 ***	15,7±0,4 ***	10	81,9±6,5 *	33,0±7,1 ***		
	20	14	77,0±5,1 ***	58,6±7,6 ***	10	92,9±16,9	71,7±13,5		
	10	14	81,9±5,2 ***	67,1±6,3 ***	10	97,0±4,1	82,1±9,5		
	5	14	90,5±5,6	84,9±6,3 *	10	105,8±6,9	80,8±13,9		
6,8-dimetil-7-etoxicarbonil-4-hidroximetil-l-ftalazona (la presente invención)	40	10	68,5±5,2	41,9±2,2	-	-	-		
	20	10	93,1±8,2	56,2±6,3 ***	10	97,5±7,5	99,6±13,2		
	10	10	90,6±3,8	49,9±6,9 ***	10	89,1±7,3	97,1±16,0 ***		
	5	12	93,3±8,9	59,8±11,3 ***	10	82,4±3,0	52,4±7,3		
	2,5	10	91,7±8,3	96,0±8,7	10	88,5±3,1 ***	52,8±7,5 ***		

\*: B 0,05      #: P 0,01

Relación de Inhibición =  $\frac{\text{Intensidad de Agregación de GPRP incubado con el compuesto}}{\text{Intensidad de Agregación de GPRP incubado con solución salina}}$

Tabla I Proporción de Inhibición contra la Agregación de 1

Incubadas con	$\mu\text{g/ml}$	Casos	ADP 3 $\mu\text{M}$	
			Primaria	Secundaria
Acido acetilsalicílico (testigo)	300	10	108,9 $\pm$ 3,6	75,5 $\pm$
	80	10	95,7 $\pm$ 1,8	70,2 $\pm$ 1
	40	10	98,9 $\pm$ 3,4	78,0 $\pm$
4-hidroximetil- -1-ftalazona (testigo)	300	10	84,5 $\pm$ 2,0*	68,3 $\pm$
	80	10	82,4 $\pm$ 3,2	64,9 $\pm$
	40	10	86,2 $\pm$ 2,5	72,0 $\pm$
7-etoxicarbonil- -4-hidroximetil- -1-ftalazona (testigo)	80	10	62,9 $\pm$ 5,0**	15,7 $\pm$
	20	14	77,0 $\pm$ 5,1**	58,6 $\pm$
	10	14	81,9 $\pm$ 5,2**	67,1 $\pm$
	5	14	90,5 $\pm$ 5,6	84,9 $\pm$
6,8-dimetil-7- etoxicarbonil-4- hidroximetil-1- ftalazona (la presente invención)	40	10	68,5 $\pm$ 5,2	41,9 $\pm$
	20	10	93,1 $\pm$ 8,2	56,2 $\pm$
	10	10	90,6 $\pm$ 3,8	49,9 $\pm$
	5	12	93,3 $\pm$ 8,9	59,8 $\pm$ 1
	2,5	10	91,7 $\pm$ 8,3	96,0 $\pm$

\*: B 0,05

\*\* : P 0,01

$$\text{Relación de Inhibición} = \frac{\text{Intensidad de Agregación de CPRI}}{\text{Intensidad de Agregación de CPRI}}$$

Regulación de las Plaquetas Humanas in vitro

ADP	3 $\mu$ M	Casos	Adrenalina 1 $\mu$ g/ml	
	Secundaria		Primaria	Secundaria
	75,5 $\pm$ 5,9 **	10	107,5 $\pm$ 2,6	62,7 $\pm$ 10,7 **
	70,2 $\pm$ 10,1 *	10	95,6 $\pm$ 5,2	46,6 $\pm$ 7,9 **
	78,0 $\pm$ 9,9 *	10	105,7 $\pm$ 3,3	45,0 $\pm$ 7,8 **
	68,3 $\pm$ 3,8 *	10	85,4 $\pm$ 3,1 *	60,2 $\pm$ 8,0 *
	64,9 $\pm$ 6,7	10	92,3 $\pm$ 6,0	69,2 $\pm$ 7,2
	72,0 $\pm$ 6,8	10	98,8 $\pm$ 5,9	85,9 $\pm$ 10,1
	15,7 $\pm$ 0,4 **	10	81,9 $\pm$ 6,5 *	33,0 $\pm$ 7,1 **
	58,6 $\pm$ 7,6 **	10	92,9 $\pm$ 16,9	71,7 $\pm$ 13,5
	67,1 $\pm$ 6,3 **	10	97,0 $\pm$ 4,1	82,1 $\pm$ 9,5
	84,9 $\pm$ 6,3 *	10	105,8 $\pm$ 6,9	80,8 $\pm$ 13,9
	41,9 $\pm$ 2,2	-	-	-
	56,2 $\pm$ 6,3 **	10	97,5 $\pm$ 7,5	99,6 $\pm$ 13,2
	49,9 $\pm$ 6,9 **	10	89,1 $\pm$ 7,3	97,1 $\pm$ 16,0 **
	59,8 $\pm$ 11,3 **	10	82,4 $\pm$ 3,0	52,4 $\pm$ 7,3
	96,0 $\pm$ 8,7	10	88,5 $\pm$ 3,1 **	52,8 $\pm$ 7,5 **

ción de CPRP incubado con el compuesto

ción de CPRP incubado con solución salina

2) Efecto de los presentes compuestos en la inhibición de la fosfodiesterasa AMP cíclica en la pared aórtica de los conejos y en las plaquetas humanas.

5 Los compuestos de la presente invención mostraron un efecto inhibitorio claro contra la fosfodiesterasa AMP cíclica en la pared aórtica de los conejos y en las plaquetas humanas.

10 El sobrenadante del plasma íntimo y medio homogenizado de la pared aórtica de los conejos o del plasma humano homogenizado rico en plaquetas, se incubó con la mezcla de reactivos constituida por AMP cíclico marcado con tritio (adenosin-3',5'-monofosfato cíclico) y diversas cantidades del compuesto.

15 La mezcla incubada se purificó por cromatografía en columna, y la fracción que contenía nucleótidos se analizó cuantitativamente con un contador de centelleo de líquido.

20 La Tabla II muestra el efecto de inhibición de estos compuestos contra la AMP fosfodiesterasa cíclica. Los números de la tabla muestran la cantidad del compuesto requerida para revelar 50% de inhibición de la AMP fosfodiesterasa cíclica.

25 Como se muestra en la Tabla II, el presente compuesto es más intensamente activo para inhibir la fos

fodiesterasa que la teofilina, la cafeína o el compuesto de la técnica anterior. Esto significa que los presentes compuestos son efectivos para aumentar la concentración de la AMP cíclica en las plaquetas y en la pared aórtica.

5

Tabla II

Compuesto	Plaquetas (humanas)	I <sub>50</sub> (micromoles)	
		Pared Aórtica	
		Intima (conejo)	Media (conejo)
7-etoxicarbonil- 4-hidroximetil- 1-ftalazona	(testigo) 57	52	144
Teofilina	(testigo) 91	127	155
Cafeína	(testigo) 350	-	460
6,8-dimetil-7- etoxicarbonil- 4-hidroximetil- 1-ftalazona	(el compues to de la presente invención) 4,1	1,6	24

25

7.10.75

El procedimiento del experimento se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito en H. Hidaka y M. Shibuya, titulado: "A new assay of cyclic nucleotide phosphodiesterase and its application to human" ("Un ensayo nuevo de la fosfodiesterasa de nucleótidos cíclicos, y su aplicación a los seres humanos"). Biochemical Medicine, en prensa.

3) Efecto hipotensor de los presentes compuestos en las ratas espontáneamente hipertensas

Los presentes compuestos tienen un efecto hipotensor excepcional en las ratas espontáneamente hipertensas. Las ratas espontáneamente hipertensas, abreviadas ratas EH, se obtienen por crianza selectiva de ratas espontáneamente hipertensas y reproducción continuada dentro de la misma raza con machos o hembras también hipertensos, y dichas ratas podrían reconocerse como genéticamente hipertensas. Se cree que las ratas EH tienen una semejanza notable con la hipertensión esencial humana y se han implicado en esta condición mórbida.

La 4-hidroximetil-1-ftalazona y la 7-etoxicarbonil-4-hidro-ximetil-1-ftalazona descritas en la técnica anterior, no exhibieron un efecto hipotensor importante en dosis intraperitoneales u orales hasta 50 mg/kg. Por el contrario, los presentes compuestos exhibieron un efecto hipotensor notable en dosis de 0,78 a 50 mg/kg, adminis-



Tabla III-b

Compuesto: 6,8-dimetil-7-etoxicarbonil-4-hidroximetil  
-1-ftalazona

Dosis, mg/kg		Presión Sanguínea y % de Depresión					
		Tiempo (horas) después de la dosificación					
		Antes	1	3	6	24	48
50	Presión Sanguínea	170	165	132	110	145	152
	Depresión %		2,9	22,4	35,3	14,7	10,6
12,5	Presión Sanguínea	175	173	155	120	142	155
	Depresión, %		1,1	11,4	28,6	18,9	11,4
3,1	Presión Sanguínea	173	170	138	110	135	150
	Depresión, %		1,7	20,2	36,4	22,0	13,3
0.78	Presión Sanguínea	183	177	167	143	160	169
	Depresión, %		3,3	8,7	21,9	12,6	8,8

7.10.75

4) Ensayo de Toxicidad . .

Los resultados del ensayo de toxicidad (DL al 50%) de los compuestos de la presente invención con los compuestos de la técnica anterior se muestran en la tabla siguiente. El ensayo se llevó a cabo por administración oral utilizando ratones. El ensayo de toxicidad muestra que estos compuestos son comparativamente no tóxicos.

	<u>DL al 50% (mg/kg)</u>
10	
	4.000
	5.000
15	4.250

20 La presente solicitud, que corresponde a la presentada en Japón, el 30 de Octubre de 1.973, bajo el Nº 121260/73, se acoge a los beneficios del Artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

25

7.10.75

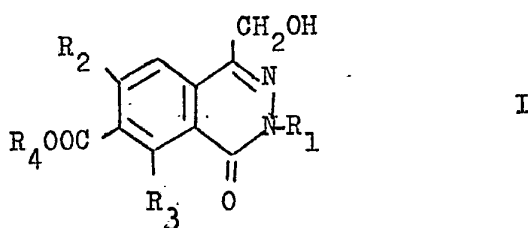
## REIVINDICACIONES

5

Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10 1ª.- Un procedimiento para preparar un derivado de 1-ftalazona representado por la fórmula general I:

15



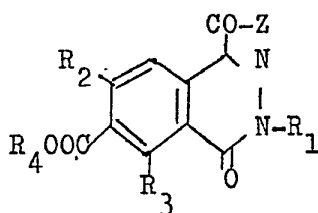
20 en la que  $R_1$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alcoholilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono; cada uno de  $R_2$  y  $R_3$  es un grupo alcoholilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono;  $R_4$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alcoholilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, con la condición de que

25  $R_4$  puede formar junto con  $R_3$  un grupo metileno, o un gru-

7.10.75

po metileno sustituido con metilo o etilo, que comprende  
hacer reaccionar un compuesto de la fórmula general II:

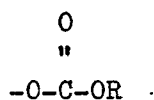
5



II

10 en la que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  son como se ha definido arriba  
y  $Z$  es un átomo de halógeno, o un grupo azido, hidroxilo  
o alcoxi, preferiblemente un grupo alcoxi que tiene de  
1 a 5 átomos de carbono, o un grupo representado por la  
fórmula:

15



en la que  $R$  es un grupo metilo o etilo, con un hidruro  
metálico complejo en presencia o en ausencia de un halu-  
ro metálico.

20

2ª.- Un procedimiento para preparar derivados  
de l-ftalazona.

25

7.10.75

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, y para los fines que se han especificado.

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

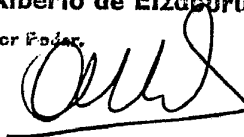
5

Madrid, 17 OCT. 1975

P.A.

Alberto de Elzaburu

Per Forjar



10

15

20

25

7.10.75

MNM/