



440.766

Int. Cl.: 007D/1961K

P A T E N T E  
D E  
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS COMPUESTOS  
DERIVADOS DE N-BENZOIL-N',N'-DI-n-PROPII-D,L-ISOGIUTAMINA"  
a favor de la fitma italiana ROTTA RESEARCH LABORATORIUM S.p.A.  
residente en San Fruttuoso di Monza (Milan) Italia.

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

El presente invento se refiere a un método para  
la preparación de nuevos compuestos dotados de actividad  
anti-inflamatoria y antirreumática terapéuticamente útiles  
y a los preparados farmacéuticos a base de estos compues-  
5. tos.

Los compuestos anti-inflamatorios conocidos son  
típicamente efectivos en las formas agudas que se caracte-  
rizan por la intumescencia y enrojecimiento de la zona afectada del cuerpo. Debido a que estas formas son particular-  
10. mente dolorosas algunos compuestos anti-inflamatorios exhi-



ben, adicionalmente, actividad analgésica.

Sin embargo, surgen dificultades en los casos que implican una lesión progresiva del cartilago y huesos (artrosis) en vez de cuando se trata meramente de enrojecimiento e intumescencia. En efecto, todos los compuestos anti-

5. inflamatorios conocidos ejercen una actividad inhibidora sobre el cartilago y el estroma de los huesos, de modo que su empleo continuo en formas crónicas de enfermedades favorece la artrosis e induce la osteoporosis. Además, los compuestos
10. anti-inflamatorios conocidos afectan adversamente la mucosa gástrica y pueden producir aún úlcera gástrica y perforación; por consiguiente es imposible su administración a sujetos que padecen de gastroduodenitis y úlceras o, cuando menos, extremadamente peligroso.

15. Un objeto de este invento consiste en proporcionar un método para la preparación de compuestos antiinflamatorios con valor terapéutico que tienen las propiedades siguientes:

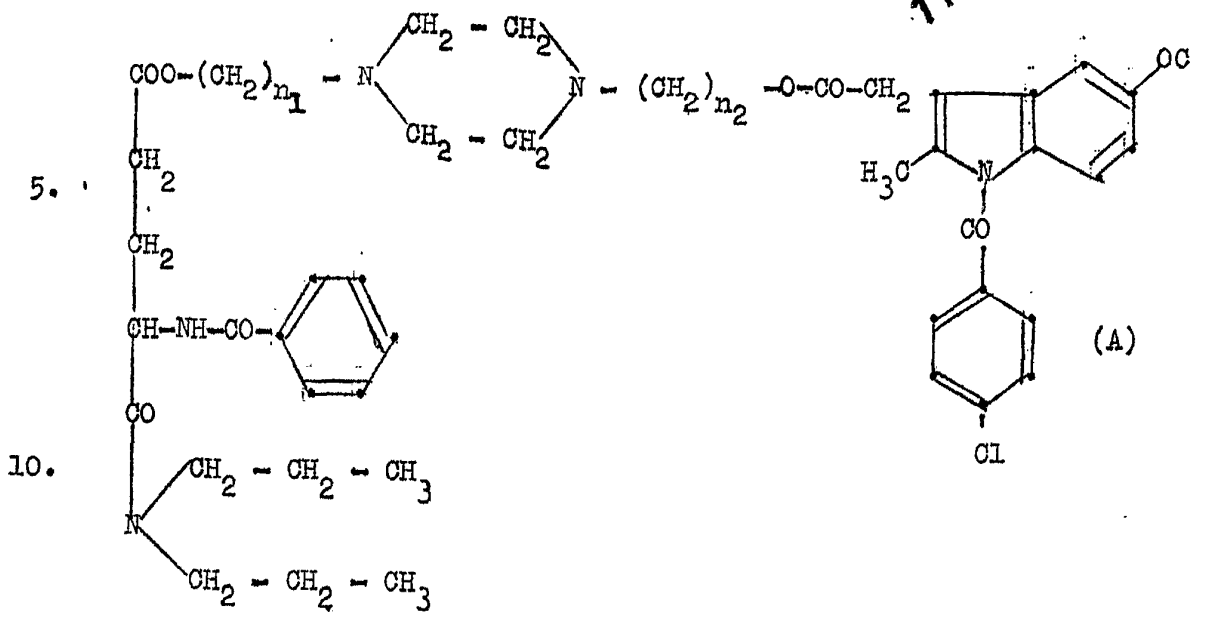
20. 1) - elevada actividad en formas inflamatorias agudas,  
2) - actividad analgésica satisfactoria,  
3) - elevada actividad en formas de osteoartritis crónica (artrosis),  
4) - ausencia de efectos irritativos y ulcerativos sobre la mucosa gástrica.

25. Por consiguiente, el invento proporciona un método para preparar nuevos compuestos antiinflamatorios y antirreumáticos que tienen la fórmula (A) siguiente:

---



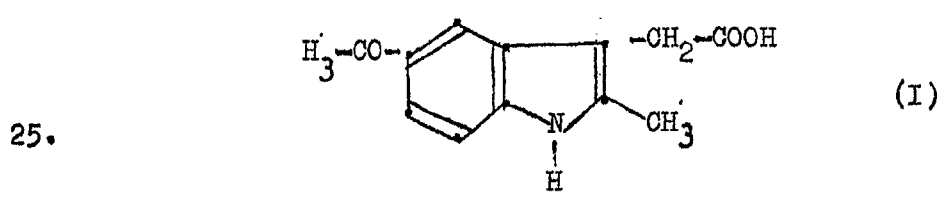
11 200



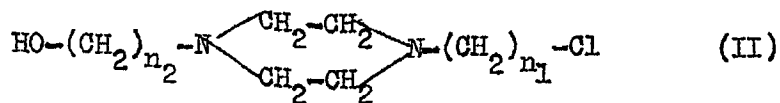
en la que

15.  $n_1$  y  $n_2$  pueden ser 2 o 3 y en donde los dos grupos amínicos terciarios pueden estar presentes, si se desea, en forma salificada por medio de un ácido farmacológicamente aceptable, tal como ácido oxálico, cítrico, maleico, fumárico o clorhídrico, que se caracteriza por las etapas de:

20. (a) - hacer reaccionar ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolil-acético

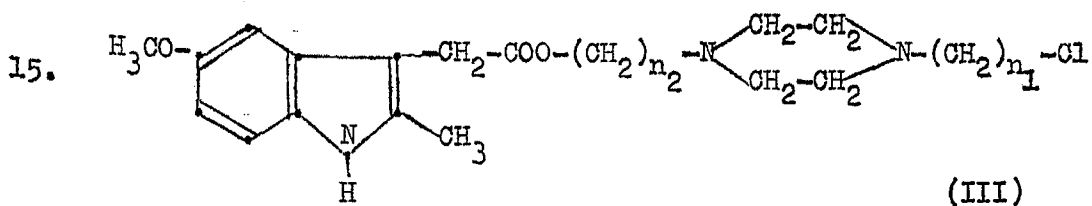


con una N-hidroxiálquil-N<sup>1</sup>-cloroálquil-piperacina

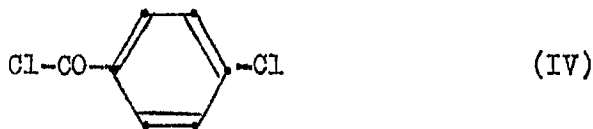


5. en donde

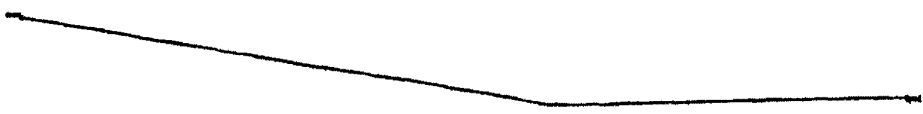
$n_1$  y  $n_2$  tienen el significado antes indicado, en un disolvente orgánico en presencia de un agente de condensación, durante un tiempo comprendido entre 8 y 48 horas a una temperatura comprendida entre 10° y 30°C, para obtener la N'-(2 o 3)-cloroalquil-N-(2 o 3)-(5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi)-alquil-piperacina correspondiente

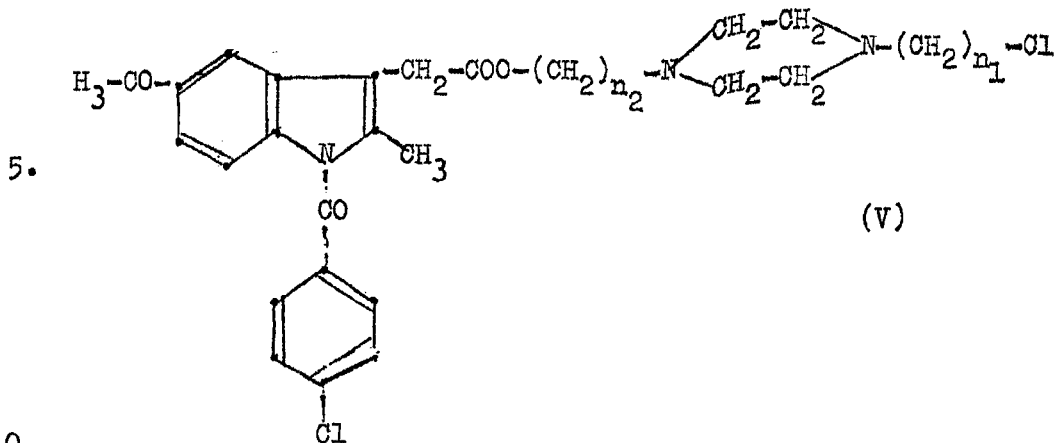


(b) - amidar el N-átomo en el grupo indólico en el compuesto (III) por medio de cloruro de p-cloro-benzoilo

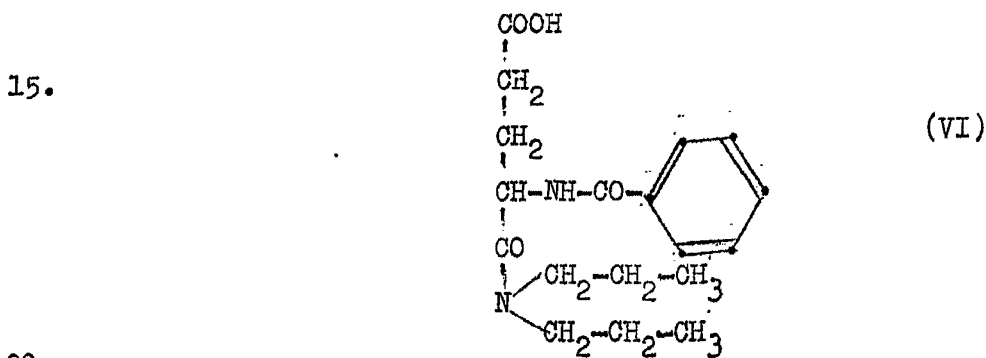


25. para obtener la N'-(2 o 3)-cloroalquil-N-(2 o 3)-[1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-alquil-piperacina correspondiente





(e) - hacer reaccionar este último compuesto con N-benzoil-N',N'-di-n-propil-DL-isoglutamina



en un disolvente orgánico en presencia de una cantidad estequiométrica de bicarbonato sódico a una temperatura comprendida entre 60° y 120° durante 2 - 12 horas, y

(d) - recuperar el compuesto final deseado (A) tal cual o en su forma salificada.

25.

En la etapa (a) el disolvente es, de preferencia, tetrahidrofurano, dioxano, cloroformo, acetato de etilo o acetona. También de preferencia, el agente de condensación es N,N'-diciolohexil-carbodiimida o N,N'-carbonil-diimidazol.



- La etapa de amidación (b) se lleva a cabo, de preferencia, haciendo reaccionar el compuesto (III) de la etapa (a) con una suspensión de metal sódico, yoduro sódico o fenato sódico (fenil-sodio) en un disolvente orgánico, tal como benceno o tolueno, a una temperatura comprendida entre 10° y 40°C durante 2 a 8 horas y mezclando a continuación la masa reaccional (sin aislar el intermedio metalorgánico) a 5°-10°C con una cantidad estequiométrica de cloruro de p-cloro-benzoilo y dejando que prosiga la reacción durante 4-12 horas a 10°-40°C.
- 5.
- 10.

El disolvente en la etapa (c) es, de preferencia, tolueno, xileno, sulfolano o sulfóxido de dimetilo.

EJEMPLO 1.

- N<sup>1</sup>-3-(cloro-propil)-N-2-(5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi)-etil-piperacina.
- 15.

- A una solución de 21,9 g (0,1 mol) de ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolil-acético en 300 cc de acetato de etilo se adicionan sucesivamente 20,6 g (0,1 mol) de N-(2-hidroxi-etil)-N<sup>1</sup>-3-(cloro-propil)-piperacina y 20,6 g (0,1 mol) de N,N'-diciclohexilcarbodiimida; se deja bajo agitación a la temperatura del ambiente durante 24 horas y después de separar por filtración el precipitado de N,N'-diciclohexilurea, se lava luego la fase orgánica en una solución de bicarbonato sódico y una solución saturada de cloruro sódico.
- 20.
- 25.

Se seca el acetato de etilo con sulfato sódico anhidro, se filtra y se seca. El residuo oleoso se utiliza, tal cual, en la siguiente etapa.

Rendimiento del 80% (cálculo analítico).



EJEMPLO 2.

N<sup>1</sup>-3-(cloro-propil)-N-2-[1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-piperacina.

5. A una solución de 40,8 g (0,1 mol) del aceite, preparado según la descripción del ejemplo 3, en 400 cc de tolueno, se adiciona bajo corriente de nitrógeno 12 g de yoduro sódico (0,1 mol) en una suspensión del 20% en aceite de vaselina; se deja que reaccione con buena agitación a la temperatura del ambiente durante 6 horas, luego se enfría a 0°C y se adicionan 17,5 g (0,1 mol) de cloruro de p-clorobenzoil. Luego se eleva la temperatura hasta la temperatura del ambiente y se deja de nuevo que reaccione durante 6 horas por lo menos.
- 10.

15. Se lava la fase orgánica en una solución acuosa de bicarbonato sódico y luego con agua; se anhidrifica con sulfato sódico anhidro, se filtra y se evapora hasta sequedad en vacío. Se disuelve el residuo oleoso así obtenido en 200 cc de metanol; con la adición de una solución metanólica de ácido oxálico precipita el di-oxalato. Rendimiento del 68%. Punto de fusión 207-210° (con descomposición).
- 20.

EJEMPLO 3.

N<sup>1</sup>-2-[1-(p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-N-3-(N-benzoil-N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-di-n-propil-D,L-isoglutaminil)-oxipropil-piperacina (OR. 604).

25. A una suspensión de 33,4 g (0,1 mol) de N-benzoil-N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-di-n-propil-D,L-isoglutamina en 300 cc de tolueno anhidro se adicionan, bajo agitación, 5,4 g (0,1 mol) de metilato sódico; se lleva la temperatura a 60° y se deja bajo agitación durante 3 horas; en este punto se adicionan 400 cc



- de solución toluénica conteniendo 0,1 mol de N'-3-(cloro-propil)-N-2-[1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-piperacina (obtenida disolviendo 76,2 g (0,105 moles) del di-oxalato correspondiente en 600 cc de agua, llevando
5. esta solución a un pH comprendido entre 9 y 10 con carbonato sódico y extrayendo, por último, la emulsión oleosa así formada dos veces, sucesivamente, con un total de 400 cc de tolueno). La temperatura se lleva a 100° y se deja que reaccione durante 12 horas; a continuación se lava la fase orgánica
10. con una solución acuosa de ácido clorhídrico, de bicarbonato sódico y, por último, de cloruro sódico. Se anhidrifica con sulfato sódico anhidro, se filtra y se evapora hasta sequedad en vacío.

- Se disuelve el residuo oleoso así obtenido en 600
15. cc de metanol; con la adición de una solución de ácido oxálico en metanol precipita el oxalato.

Rendimiento del 85%, punto de fusión 190-192° (cristaliza con metanol). Substancia microcristalina de color blanco cremoso, ligeramente soluble en etanol, metanol, acetona.

20. Insoluble en H<sub>2</sub>O.

Microanálisis

(CR 604-dioxalato)	C%	H%	N%
Calculado	58,60	6,10	6,83
Hallado	59,01	6,19	6,79

25. El di-maleato puede obtenerse siguiendo el mismo procedimiento.

Rendimiento del 83%, punto de fusión 146-148°C (cristaliza con etanol). Substancia microcristalina de color crema pálido; ligeramente soluble en etanol, acetona; mas so-



luble en metanol. Insoluble en agua.

Alternativamente, todavía con el mismo procedimiento, pero menos ventajosamente, puede obtenerse el di-clorhidrato. Rendimiento del 70%, punto de fusión 107-111°

5. (con descomposición).

Substancia de aspecto amorfo, y oclor ligeramente amarillo. Soluble en metanol y etanol. Escasamente soluble en acetona. Ligeramente soluble en agua (solubilidad alrededor de 0,5% a 25°).

10. EJEMPLO 4.

N'-3-(cloro-propil)-N-3-(5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi)-propil-piperacina.

Se procede como en el ejemplo 1, utilizando 22,0 g (0,1 mol) de N-(3-hidroxi-propil)-N'-3-(cloro-propil)-piperacina en lugar de N-(2-hidroxi-etil)-N'-3-(cloro-propil)-piperacina. Por último se obtiene un compuesto oleoso. Rendimiento del 71% (cálculo analítico).

EJEMPLO 5.

20. N'-3-(cloro-propil)-N-3-[1-(p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-propil-piperacina.

Se procede como en el ejemplo 2 utilizando esta vez 42,2 g (0,1 mol) del aceite preparado según el ejemplo 4 en lugar del aceite preparado según el ejemplo 1.

25. Por último se aísla el compuesto en forma de un oxalato. Rendimiento del 66%, punto de fusión 185-188° (con descomposición).

EJEMPLO 6.

N'-3-[1-p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-propil-N-3-(N-benzoil-N',N'-di-n-propil-D,L-isoglutaminil)-oxipropil-piperacina (CR 613).



Se procede como en el ejemplo 3, utilizando 56,0 g (0,1 mol) (cálculo analítico) de N'-3-(cloro-propil)-N-3-[1-(p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-propil-piperacina en lugar de N'-3-(cloro-propil)-N-2-[1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-piperacina.

Rendimiento del 78%, punto de fusión 138-141<sup>o</sup> (di-maleato). Substancia microcristalina, color amarillo cremoso, ligeramente soluble en etanol, acetona; mas soluble en metanol. Insoluble en agua.

Microanálisis

(CR 613-di-maleato):	C%	H%	N%
Calculado	60,56	6,28	6,42
Hallado	60,31	6,41	6,28

15. EJEMPLO 7.

N'-2-(cloro-etil)-N-2-(5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi)-etil-piperacina.

Se procede como en el ejemplo 1 utilizando 19,3 g (0,1 mol) de N-(2-hidroxi-etil)-N'-2-(cloro-etil)-piperacina en lugar de N-(2-hidroxi-etil)-N'-3-(cloro-propil)-piperacina. Por último se obtiene un compuesto oleoso. Rendimiento del 79% (cálculo analítico).

EJEMPLO 8.

25. N'-2-(cloro-etil)-N-2-[1-(p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-piperacina.

Se procede como en el ejemplo 2 utilizando esta vez 39,4 g (0,1 mol) del aceite preparado según el ejemplo 7 en lugar del aceite preparado según el ejemplo 1.

Por último se aísla el compuesto en forma de un oxalato.



Rendimiento del 69%, punto de fusión 213-215°  
(con descomposición).

EJEMPLO 9.

5. N'-2-[1-(p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-N-2-(N-benzoil-N',N'-di-n-propil-D,L-isoglutaminil)-oxietil-piperacina (CR 626).

Se procede como en el ejemplo 3, utilizando 53,2 g (0,1 mol) (cálculo analítico) de N'-2-(cloro-etil)-N-2-[1-(p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-piperacina en lugar de N'-3-(cloro-propil)-N-2-[1-(p-cloro-benzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-etil-piperacina.

Rendimiento del 71%, punto de fusión 163-164°  
(di-maleato).

15. Substancia microcristalina, color amarillo cremoso; ligeramente soluble en etanol, acetona; mas soluble en metanol. Insoluble en agua.

Microanálisis

	(CR 626 di-maleato):	C%	H%	N%
	Calculado	59,90	6,07	6,59
20.	Hallado	59,17	5,91	6,47

25. Las características farmacológicas de los compuestos objeto de este invento se describirán ahora por el orden expuesto en el principio, o sea, describiendo su actividad en las formas inflamatorias agudas, su actividad analgésica, su actividad antiartrótica y la ausencia de cualquier actividad ulcerativa o actividad alguna irritativa en la mucosa gástrica.

Los experimentos que se exponen se llevaron a cabo con animales o con seres humanos.



Experimentos sobre animales

- la. Actividad anti-inflamatoria aguda: esta actividad se midió según la prueba de la pata de conformidad con Domenjoz, que se caracteriza por llevarse a cabo según el método siguiente:
5. Se administra a ratas jóvenes de peso medio de 200 g mediante inyección hipodérmica en la pata derecha una suspensión acuosa de carragenina al 1%, una hora después de la administración oral de los farmacos que se investigan.
10. Después de dos horas de administrarse la carragenina, se dislocan las patas, se pesan y se comparan las patas inyectadas, mientras están hinchadas, con las patas no intervenidas.
- La diferencia de peso aumenta en proporción con la actividad anti-inflamatoria. La evaluación se efectúa calculando la  $DE_{50}$  en mg/kg por vía oral, o sea, la dosis de farmaco capaz de reducir en el 50% la inflamación de la pata tratada en comparación con las patas no tratadas.
15. En la Tabla 1 se expone y compara exactamente la  $DE_{50}$  de los compuestos objeto de este invento y de unos pocos de los mejores antiinflamatorios conocidos. Esta evaluación se expresa en mg/kg de peso animal y en micromoles/kg de peso del animal. Esta segunda evaluación, mas fidedigna, debido a que se toma con referencia a cada molécula simple,
20. demuestra que entre todos los compuestos estudiados los mas interesantes son los marcados con las iniciales CR 604.
- 25.
-



TABLA 1

Actividad antiinflamatoria aguda (prueba de Domenjoz)

	Peso mo lecular	DE <sub>50</sub> $\mu$ m/kg per os (+)	DE <sub>50</sub> mg/kg per os
5.			
	CR 604 (di-maleato)	1076,63	11,5
	CR 613 (di-maleato)	1090,70	13,6
	CR 626 (di-maleato)	1062,60	15,0
10.	Fenilbutazona	308,37	463,7
	Acido acetilsalicílico	180,15	1254,5
	Acido mefenámico	241,30	439,4
	Ibuprofen	206,27	436,3
15.	Indometacina	357,81	17,3
			6,2

(+): micromoles/kg.

1b. Prueba del granuloma inducida por pellas

Otra prueba importante para la evaluación de una actividad anti-inflamatoria es la de pellas de algodón. Consiste en insertar una pella de algodón estéril bajo la piel del dorso de la rata.

20. Esta pella se deja in situ durante una semana mientras que se tratan los animales cada día con diversas dosis del farmaco que se examina. La evaluación se lleva a cabo pesando las pellas tomadas en el tiempo dado y secas y comparando el peso de las dos de los animales tratados con los testigos. Asi pues, la DE<sub>50</sub> se expresa como una dosis de farmaco capaz de reducir en el 50% el aumento en peso que experimenta la pella con la infiltración del tejido inflamado circundante.

25.



En la Tabla 2 se exponen los resultados limitados al CR 604 y a la Indometacina. También en esta prueba, el CR 604, uno de los compuestos de este invento, muestra una elevada actividad antiinflamatoria.

5.

TABLA 2

Actividad anti-inflamatoria aguda (prueba del granuloma)

SUBSTANCIAS	Peso molecular	DE <sub>50</sub> $\mu$ m/kg per os (+)	DE <sub>50</sub> mg/kg per os
10. CR 604 (di-maleato)	1076,63	25,6	27,6
Indometacina	357,81	23,5	8,41

(+): micromoles/kg

15.

2. Actividad analgésica: La actividad analgésica de un antiinflamatorio puede examinarse tradicionalmente según el método de fenilquinona basado en el hecho de que la administración intra-peritoneal a una rata de una sustancia irritante, tal como fenilquinona, induce reacciones vocales ("squirring") en el animal.

20.

Según el número de estas reacciones se juzga el sensibilidad del dolor. La evaluación se efectúa como la DE<sub>50</sub> en mg/kg de peso animal y es la dosis que reduce en el 50% la respuesta al estímulo irritativo.

25.

Los resultados expuestos en la Tabla 3, especialmente los referidos a micromoles, evidencian, especialmente cuando se comparan con los valores correspondientes a la indometacina, una actividad del CR 604 que es todavía mas interesante.



TABLA 3

Actividad analgésica en la rata. Prueba de la  
fenilquinona, per os

5.	SUBSTANCIA	Peso mole cular	DE <sub>50</sub> $\mu$ m/kg <u>per os (+)</u>	DE <sub>50</sub> mg/kg <u>per os</u>
	CR 604 (di-maleato)	1076,63	5,3	5,72
10.	Indometacina	357,81	5,6	2
	Fenilbutazona	308,37	324,0	100

(+): micromoles/kg

3. Actividad en formas osteoartrosicas orómicas: La evaluación experimental de los compuestos examinados por lo que respecta a su actividad sobre formas osteoartrosicas se dividió en dos partes: in vitro e in vivo.

15. Estas pruebas consisten, fundamentalmente, en la evaluación de las posibilidades de que los farmacos influyen positivamente la reconstrucción del tejido osteoartrosicos entorno de la articulación, debido a que estas enfermedades se caracterizan, generalmente, por la destrucción de estos tejidos que se inicia en el estroma proteico y se extiende a través de la parte mineral en el caso de los huesos.

25. a. Pruebas in vitro: Estas pruebas consisten en el cultivo in vitro, o sea, fuera del organismo, de tejido del mismo origen embriológico en relación con el osteoartrosicos. Con el desarrollo de este tejido se miden luego las actividades de diversos farmacos. Las unidades de medición de estas actividades es la producción de glucosaminoglicanos



(mucopolisacáridos medido según el método turbidimétrico).

Una serie de pruebas de este tipo que ya se han publicado [véase, por ejemplo, Karzel y otros - Excerpta Medica int. Congr. serie nº 188 (1968, pág. 102)] revela

5. que todos los antiinflamatorios previamente conocidos causan una reducción en la actividad de estos tejidos y esto explica el daño que puede observarse en un ser humano, después del prolongado uso de estos fármacos.

10. Los compuestos que forman el objeto de este invento se evaluaron de conformidad con esta prueba y se compararon con anti-inflamatorios conocidos.

Los resultados se exponen en la Tabla 4.

TABLA 4

15. Actividad de los compuestos con la producción de mucopolisacáridos a partir de cultivo de fibroblasto in vitro (+)

SUBSTANCIAS	DOSES: µg/cc de líquido de cultivo	Productos mucopolisacáridos al décimo día de incubación. Valores expresados en % con respecto a los testigos
INDOMETACINA	2	78
FENILBUTAZONA	10	58
ACIDO MEFENAMICO	10	58
CR 604 (DI-MALEATO)	6	108

25. (+): Mucopolisacáridos medidos según el método turbidimétrico. Karzel y col. Excerpta Medica - Med. Int. Congr. Serie nº 188 (1968), pág. 102.

El examen de la tabla 4 demuestra que el CR 604 es el único compuesto que no perjudica, en este cultivo in



vitro de tejido colágeno, el desarrollo y la producción de mucopolisacáridos.

B. Pruebas in vivo: Osteolatrismo en el conejo.

El osteolatrismo consiste en inducir en conejos

5. juvenes una distrofia del sistema de articulación osea, administrando cada día aminoacetónitrilo por vía i.p., en la cantidad de 100 mg/kg de peso corporal. Con este tratamiento al cabo de unos 30 días se aprecian en el conejo los cambios siguientes:
  10. Pérdida de peso (referido a los textigos tratados fisiológicamente), ptosis del pabellón auricular, pérdida de pelo, deformación de los miembros anteriores y posteriores, deterioro del estado general.  
Todo esto se debe a que el aminoacetónitrilo es un
  15. veneno para el tejido colágeno que modifica la composición bioquímica de los cartílagos de las articulaciones y los huesos.  
Una evaluación de la actividad terapéutica puede llevarse a cabo mediante evaluación bioquímica, o sea midiendo la cantidad de aminoazúcares en estos tejidos o considerando solo los síntomas generales, que son proporcionales a la disminución de los aminoazúcares.
  20. En la Tabla 5 se expone esta última evaluación en donde cada síntoma se evalúa asignándole un número de 0 a 4, indicándose con 4 la cantidad máxima de perjuicio y con 0
  25. ningún perjuicio.
-



TABLA 5

Conejos de 30-35 días tratados con aminoacetnitrilo  
Farmacos administrados por vía i.p.

SUBSTANCIAS	Días de tratamiento	Ptosis del pa bellón auricular	Pérdida de pelo	Estado general del animal	Andar defor mado de las pa tas pos terio-res	Andar defor mado de las patas ante- riores	Pérdida de peso
Testigo fisiológico	25	0	0	0	0	0	0
Testigo de aminoacetnitrilo 100 mg/kg/día	25	1,2	3	3,2	2,3	2,8	3,8
CR 604 (dima-leato) 15 mg/kg/día + amino-acetnitrilo 100 mg/kg/día	25	0,2	0	0,2	0,6	0	0
Indometacina 5 mg/kg/día + aminoacetnitrilo 100 mg/kg/día	25	1,4	3	3,8	1,6	3,2	3,5

En la Tabla 5 se exponen los resultados del tratamiento evaluado el 25º día, en comparación con los grupos tratados únicamente con una solución fisiológica, solo con aminoacetnitrilo, con aminoacetnitrilo y CR 604, con aminoacetnitrilo e Indometacina con las dosis indicadas.

Cada grupo está constituido por 8 animales.

Los resultados obtenidos demuestran que el aminoacetnitrilo produce una sintomatología muy elevada, con acusada agravación de los síntomas indicados. La indometacina sola no puede impedir por si sola que se produzcan



estas condiciones, que son, por otra parte bien contrarrestadas por el CR 604, que modifica en gran manera estos síntomas tóxicos.

4. Actividad irritante y ulceroígena sobre la mucosa

5. gástrica

La evaluación experimental de esta actividad se llevó a cabo sobre ratas según el método aquí expuesto:

El compuesto se administró por vía oral a ratas que habían ayunado durante 12 horas, sacrificándose los animales cuatro horas después de la administración.

10.

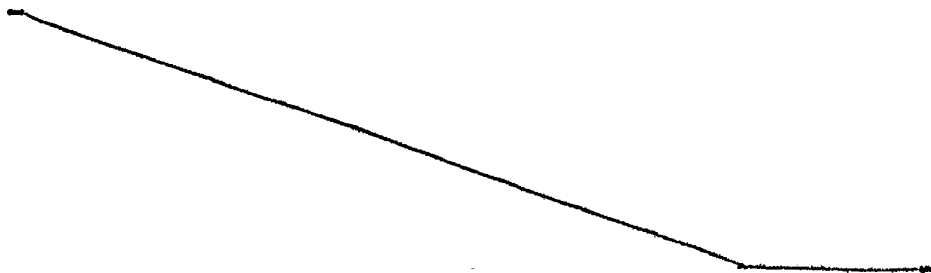
Los animales que se consideran positivos, o sea, con daño en el estómago, son los que tienen, por lo menos, un punto de hemorragia en la pared del estomago.

15. Por  $DE_{50}$  se entiende la dosis del farmaco que puede prevenir en el 50% de los animales tratados la formación de estas hemorragias.

En la tabla 6 se compara el CR 604 y la indometacina, ya que esta última es, entre todos, el que mas se aproxima a los valores de actividad antiinflamatoria del CR 604.

20.

Los resultados obtenidos demuestran que, mientras la dosis gastrolesiva es muy baja en la indometacina, aún cuando se expresa en micromoles, la del CR 604 es tan elevada que carece de importancia práctica, siendo difícilmente igual a una dosis fatal.



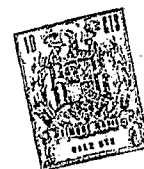


TABLA 6

Actividad gastrolesiva en ratas:  $DE_{50}$  gastrolesiva

5.	SUBSTANCIA	Método de administ.	Peso molecular	$DE_{50}$ gastrolesiva en $\mu\text{m/kg}$ (+)	$DE_{50}$ gastrolesiva en mg/kg
	Indometacina	Oral	357,81	33,5	12
	CR 604 (di-maleato)	"	1076,63	330,1	355,2
10.	CR 613 (di-maleato)	"	1090,70	277,4	302,6
	CR 626 (di-maleato)	"	1062,60	341,7	363,1

(+): micromoles/kg

TOLERANCIA EN ANIMALES

15. Para estas sustancias, y particularmente para el CR 604, se llevaron a cabo pruebas de tolerancia, subaguda y crónica, mediante la administración a los animales durante 6 meses a lo sumo. Los resultados demuestran que el producto, aún en cantidades superiores a las recomendadas para los seres humanos, son bien toleradas sin ninguna lesión
20. anatómica o funcional especial.

USO TERAPEUTICO EN SERES HUMANOS

25. Los compuestos objeto de este invento pueden administrarse a los seres humanos por vía oral en forma de pastillas y cápsulas que contengan cantidades de sustancia variables entre 50 y 150 miligramos.

Por ejemplo, para el CR 604 (di-maleato), pueden prepararse cápsulas para administración oral conteniendo 75 mg de compuestos intimamente mezclado con un excipiente aceptable en farmacia, tal como, por ejemplo: almidón, lactosa,



talco, estearato de magnesio, etc.

La dosis mínima recomendada es de 3 cápsulas por día, que puede doblarse en el supuesto que el caso lo requiera.

5. Pueden prepararse también supositorios que contengan de 100-200 mg de Cr 604 (di-maleato) dispersado en un excipiente aceptable en farmacia.

Según se requiera pueden administrarse de 1 a 3 supositorios por día.

10. Es obvio que pueden prepararse otras formas para administrarse por vía oral o rectal, con excipientes aceptables desde el punto de vista farmacológico.

15. Los efectos terapéuticos deseados de estos productos y particularmente del CR 604, pueden demostrarse también en los seres humanos siguiendo los métodos más científicamente aconsejables, como es la técnica doble-cega.

20. Así pues, por ejemplo, comparando el CR 604 administrado en cápsulas de 75 mg (6 por día), con indometacina en cápsulas de 25 mg (6 por día), o sea en dosis aproximadamente equimoleculares, sobre un grupo de 60 sujetos tratados, 30 con CR 604 y 30 con indometacina, se aprecia que (véase tabla 7):

- a. Mientras la indometacina en el 46,6% de los sujetos tratados (después de 1 semana de tratamiento) y en el 53,3% de los sujetos tratados (después de 3 semanas de tratamiento) induce trastornos gástricos de modo que, en ciertos casos, es aconsejable interrumpir la terapia, el CR 604 no induce ningún trastorno apreciable con dosis terapéuticamente equi-activas.



b. El cálculo uropepsinógeno evidencia que mientras en los sujetos tratados con CR 604 esta substancia disminuye en la orina, aumenta por otra parte en los sujetos tratados con indometacina. Esta prueba demuestra objetivamente lo que se ha indicado anteriormente, ya que el uropepsinógeno demuestra la cantidad de pepsina segregada en el estómago y eliminado a través de la orina.

La secreción gástrica de la pepsina aumenta con agentes que irritan y perjudican la mucosa gástrica.

10. q. En los sujetos tratados con CR 604 existe una reducción en la excreción de calcio urinario, mientras que en los sujetos tratados con indometacina existe una tendencia a aumentar. La excreción de calcio está relacionada con la destrucción de los fibrilos de la matriz osea proteica que así pierde también el calcio sobre ésta depositado.

15. La administración de anti-inflamatorios conocidos produce la lisis de estos fibrilos con pérdida de calcio. Por el contrario el CR 604 no induce esta destrucción o la reduce.

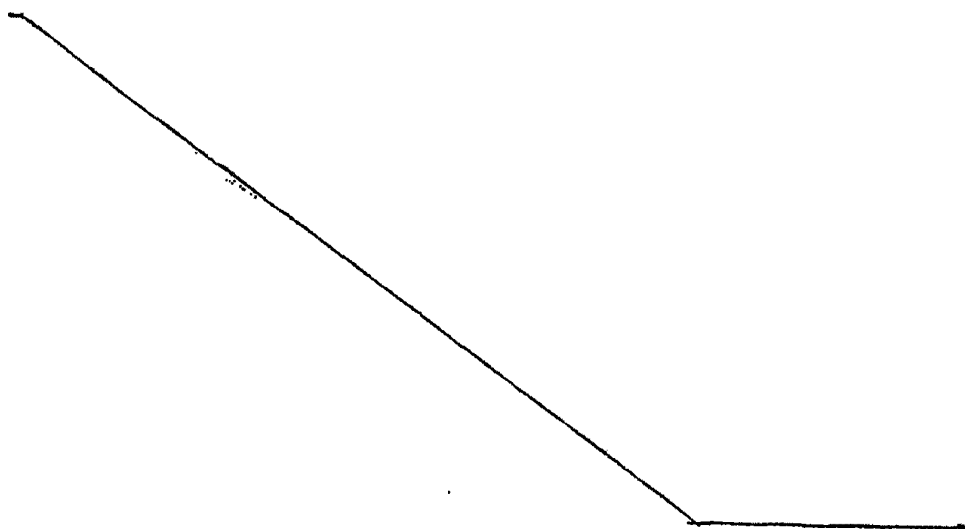


TABLA 7

SUBSTANCIAS	Dolor epigástrico (expresado en % de pacientes con dolor			Uropeosinógeno expresado en mg equivalente de tirosina por día)			Calcio urinario (en mg/1000 cc de orina		
	Antes del tratamiento	Después de una semana	Después de 3 semanas	Antes del tratamiento	Después de una semana	Después de 3 semanas	Antes del tratamiento	Después de una semana	Después de 3 semanas
GR 604 (di-maleato)	0	3,3	0	216,3	209,8	153,8	132	107	98
INDOMETACINA	0	46,6	53,3	164,7	206,1	345,7	126	137	148

Así pues, para el compuesto GR 604 también en seres humanos se encuentran las mismas características que las concretadas en las pruebas in vitro y en las pruebas sobre animales.

5. Estas características justifican ampliamente una innovación terapéutica de considerable importancia.

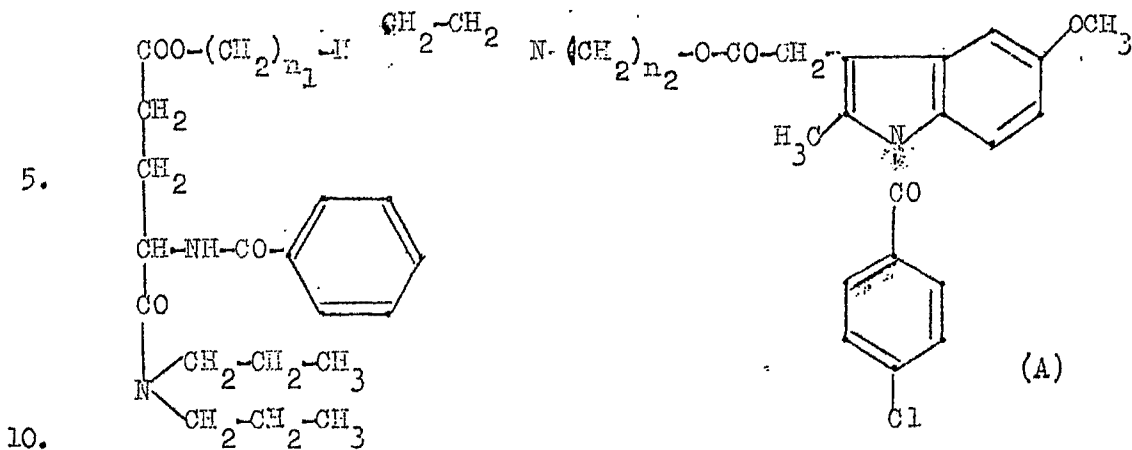
= . =

REIVINDICACIONES

10. Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de la solicitud de patente italiana nº 69523-A/74 del 12 de Agosto de 1974.

15. 1.-Procedimiento para la preparación de nuevos compuestos derivados de N-benzoil-N',N'-di-n-propil-D,L-iso-glutamina, de actividad anti-inflamatoria y antirreumática, que tienen la fórmula:

**POOR  
QUALITY**



en la que

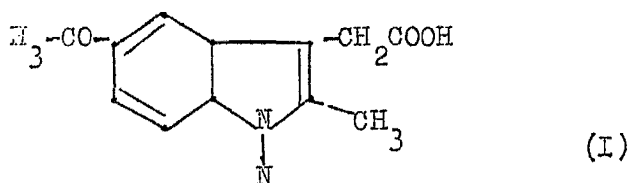
15.

$n_1$  y  $n_2$  son 2 o 3, y en donde los dos grupos amínicos terciarios pueden estar presentes, si se desea, en forma salificada mediante un ácido aceptable en farmacia, tal como ácido oxálico, cítrico, málico, succínico o clorhídrico,

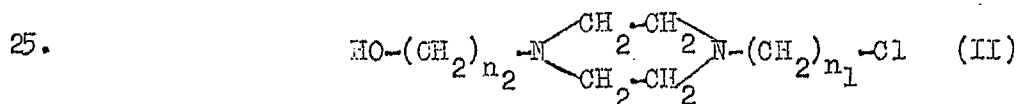
caracterizado porque en su realización comprende las etapas sucesivas de

20.

(a) - hacer reaccionar ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolil-acético

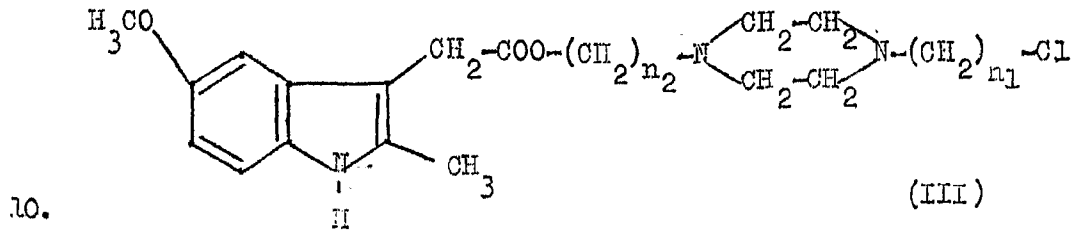


con una N-hidroalquil-N'-cloroalquil-piperacina

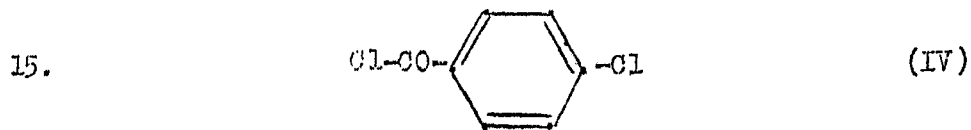


en la que

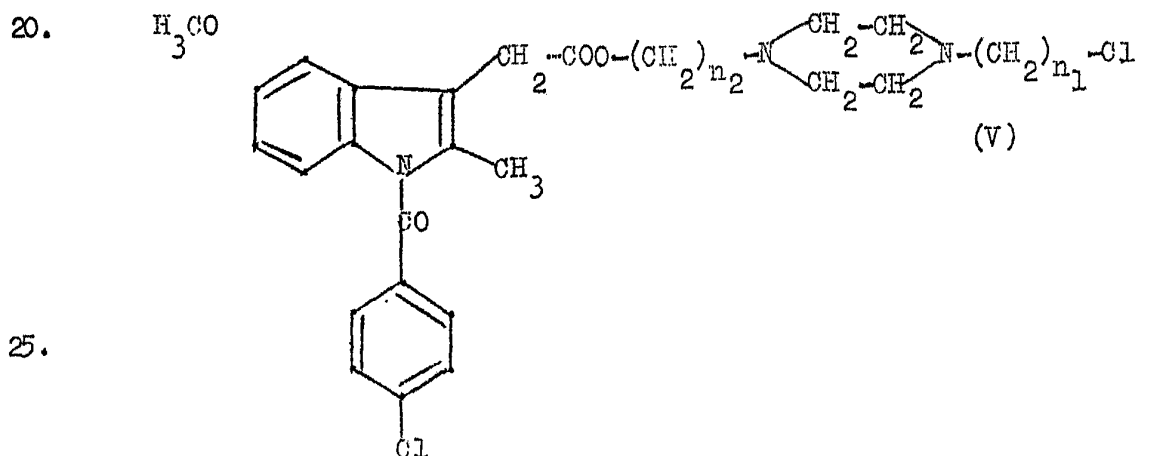
- $n_1$  y  $n_2$  tienen el significado antes indicado, en un disolvente orgánico en presencia de un agente de condensación, durante 8 a 48 horas a una temperatura comprendida entre 10° y 30°C, para obtener la N'-(2 o 3)-cloroalquil-N-(2 o 3)-(5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi)-alquil-piperacina correspondiente



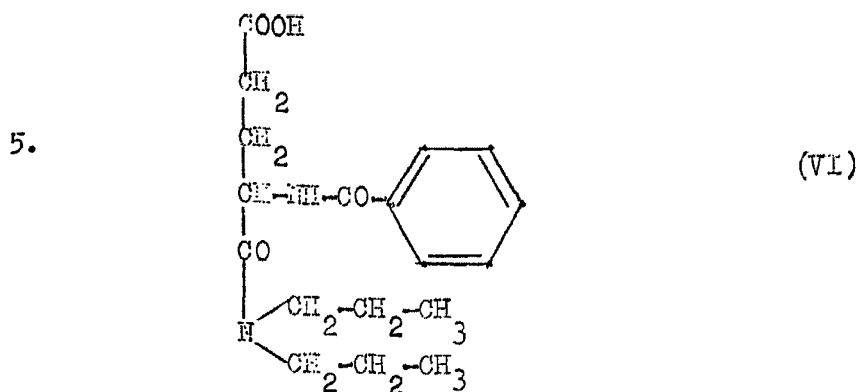
(b)- amidar el N-átomo en el grupo indólico del compuesto (III) por medio de cloruro de p-cloro-benzoilo



para formar la N'-(2 o 3)-cloroalquil-N-(2 o 3)-[1-(p-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolacetoxi]-alquil-piperacina



(c) - hacer reaccionar este último compuesto con N-benzoil-N',N'-di-n-propil-DL-isoglutamina



10. en un disolvente orgánico en presencia de una cantidad estequiométrica de bicarbonato sódico a 60°-120°C durante 2 a 12 horas,

(d) - y recuperar el compuesto final desecado (A) como tal y opcionalmente en su forma salificada.

15. 2. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el disolvente en la etapa (a) es tetrahidrofurano, dioxano, cloroformo, acetato de etilo o acetona.

20. 3. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el agente de condensación es N,N'-diciclohexilcarbodiimida o N,N'-carbonil-diimidazol.

25. 4. Procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la etapa de amidación (b) se lleva a cabo haciendo reaccionar el compuesto (III) de la etapa (a) con una suspensión de metal sódico, yoduro sódico o fenato sódico en un disolvente orgánico a 10°-40°C durante 2 a 8 horas y mezclando subsiguientemente la masa reaccional a 5°-10°C con una cantidad estequiométrica de cloruro de p-clorobenzilo y dejando que prosiga la reacción durante



4 a 12 horas a 10°-40°C.

5. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el disolvente de la etapa (c) es tolueno, xileno, sulfolano o sulfóxido de dimetilo.

5. 6. Procedimiento para la preparación de nuevos compuestos derivados de N-benzoil-N',N'-di-n-propil-D,L-isoglutamina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 27 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

10.

Madrid, a 11 de Agosto de 1975

p. a.

J. JAIME ISERN

p. p.

Firmado: JOSE L. MORAN

ⓧ