



ESPAÑA

ES 449699 AI
NUMERO
8-7-1.976

PATENTE DE INVENCION

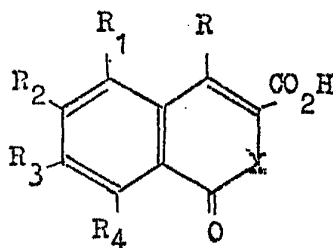


60 PRIORIDADES:		
61 NUMERO	62 FECHA	63 PAIS
47485/73	11-10-1.973	Inglaterra
64 FECHA DE PUBLICIDAD	61 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07D//A61K	430.949
64 TITULO DE LA INVENCION		
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA COMPOSICION ANTIALERGICA.		
67 SOLICITANTE (S)		
BEECHAM GROUP LIMITED		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Beecham House, Brentford, Middlesex, Inglaterra		
68 INVENTOR (ES)		
Derek Richard Buckle; Barrie Christian Charles Cantello; Harry Smith, todos de nacionalidad británica, los cuales han cedido sus derechos a la Compañía solicitante.		
69 TITULAR (ES)		
El mismo solicitante		
70 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-
 5 lor en la profilaxis y tratamiento de enfermedades asocia-
 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
 pueden inhibir los efectos de ciertos tipos de reacciones
 30 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 an-
tígeno-anticuerpo y que parecen mediar en la respuesta alér-
gica.

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 referen-
cia 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 carboxíli-
co (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. Banerjee.
30 4. J.Chem. Soc., (1951), 1213.



D.J. Dijksman, 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.

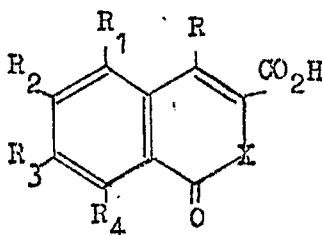
5

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, probablemente, posean alguna forma de actividad biológica útil, y en particular el descubrimiento de que tienen actividad anti-alérgica no ha sido predicho en ningún sentido.

10

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

15



(I)

20

O una sal farmacéuticamente aceptable,
en la que, junto con uno o más portadores farmacéuticamente 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 aceptable, éster o amida derivados de grupos ácido carboxílico o grupos aciloxi, y dos cualquiera de R₁, R₂, R₃ y

25

30



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
una forma apropiada para la administración a seres humanos.

5 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- o 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
1,2 - ciclohexileno.

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

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

25 Ejemplos de compuestos específicos que pueden ser in-
corporados en las composiciones de la presente invención
incluyen los siguientes ácidos y sus sales farmacéutica-
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
orgánicas tal como aminas o compuestos amino.

20

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
compuesto tanto para inhibir la respuesta de tos, si se
5 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-Dimetoxisocumarin-3-ácido carboxílico

Isocarbostiril-3-ácido carboxílico

25 4-Metilisocarbostiril-3-ácido carboxílico

6,7-Dimetiloxisocarbostiril-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.

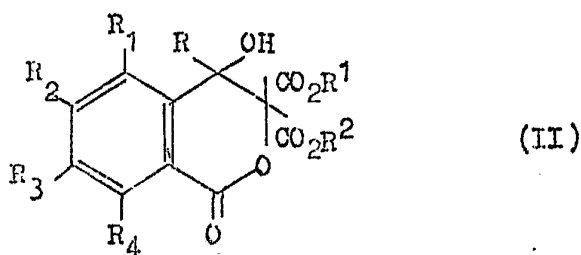
Ejemplos específicos de tales compuestos originales de
la fórmula (I) incluyen los siguientes compuestos y sus
10 sales farmacéuticamente aceptables:

- 8-Metilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 4,8-Dimetilisocumarin-3-ácido carboxílico
- 7-Metoxisocumarin-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



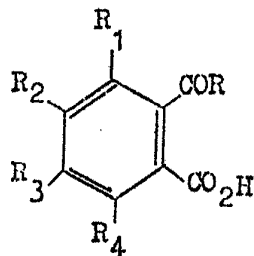
30



1 mediante una hidrolisis ácida en donde R, R₁, R₂, R₃ y
 5 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-
 siduo ester susceptible a una hidrolisis ácida y después
 si se desea convirtiendo el compuesto carboxiló libre de
 la fórmula (I) formado de este modo en una sal farmaceutica-
 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)

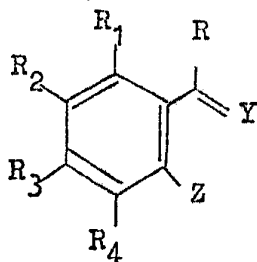
20 con dietil bromomalonato bajo condiciones alcalinas.

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):

30



1

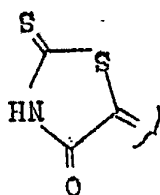


(IV)

5

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 carbóxilo o un grupo carbóxilo esterificado, e Y es o un grupo de la fórmula (V):

10

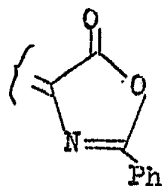


(V)

15

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

20



(VI)

25

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.

30



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 C tal como grupo metilo o etilo. 1-6

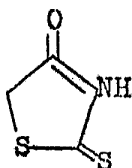
5

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:

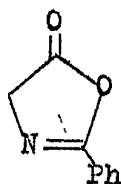
15



(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 al 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 - metilbenzaldehido por un pro-
cedimiento análogo al que se describe en el Ejemplo 1.



1 EJEMPLO 4

4,8 - Dimetilisocumarin - 3 - ácido carbóxico

4,8 - Dimetilisocumarin - 3 - ácido carbóxico, 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 - acetil - 6 - ácido metilbenzoico por un procedimiento análogo al que se describe en el Ejemplo 2.

5

EJEMPLO 5

10 7 - Metoxiisocumarin - 3 - ácido carbóxico

7 - Metoxiisocumarin - 3 - ácido carbóxico, 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 carbóxico

7 - Bromoisocumarin - 3 - ácido carbóxico, 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

25

EJEMPLO 7

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

4,6,7 - Trimetilisocumarin - 3 - ácido carbóxico 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:
10 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 - dimetoxibenzal-
dehído (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
20 6N (70 ml.) y se deja en reposo durante 1 hora a 0^o. La fil-
tración 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,
25 7,40).

30 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) 316-8^o (p. de fusión lit. 313-4^o) se
obtiene como un sólido higroscópico, a partir de la reac-
10 ción de 6,7-Dimetoxiisocoumarin - 3 - ácido carboxílico
con amoniaco en etanol a 50^o, por un procedimiento análogo
al descrito en el Ejemplo 9.

EJEMPLO 12

15 2 - Tiaisocoumarin - 3 - ácido carboxílico

Una mezcla de 5- (o-carboxibenzilidina) rodanina
(4,68 h.) e hidroxido 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_o de
fusión 260,5-261^o. (p. de fusión lit. 261-3^o), (Hallado;
D, 58,10; H, 2,92; S, 15,41. C₁₀H₆SO₃ 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) 250,5-251,5^o (p. de fusión lit.
243-5^o), (Hallado: C, 60,40; H, 3,98; S, 14,80, C₁₁H₈SO₃,
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.

5 EJEMPLO 14

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-dimetoxibenzaldehído (κ-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, 7, 681.)



1
5
10
15
20
25
30

Se inyectan, intraperitonealmente, ratas macho Wistar de 250 a 300 g. con 0,5 g. de Bordetella pertussis vacuno (conteniendo 4 x 10¹⁰ de organismo muerto por ml.) y subcutaneamente con 0,5 ml. de una emulsión de 100 mg. de ovoalbumina en 2 ml. de solución 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 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).

0,1 ml. de cada una de seis diluciones pares seriadas de suero en solución salina al 0,9% (suero fisiológico) se inyectan intradermicamente en zonas separadas de la superficie dorsal afeitada de ratas Wistar de 250-350 g. 72 horas más tarde, se estimula a los animales mediante inyección i.v. de 0,3 ml. de ovoalbumina al 1% mezclada con 0,1 ml. de tintura de pontamina azul cielo al 5%, ambas en solución salina isotónica tamponada a pH 7,2 con buffer Sorenson (P.B.S.). Después de 20 minutos se matan las ratas y se mide el 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 respuesta después de la estimulación, en el lugar donde se inyecta la dilución más alta y una respuesta máxima en



1

5

10

15

20

25

30

la de dilución mas baja.

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

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.

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

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.

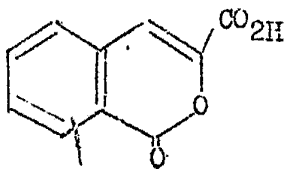
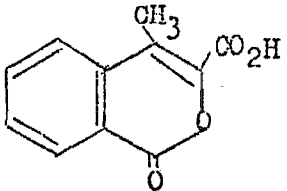
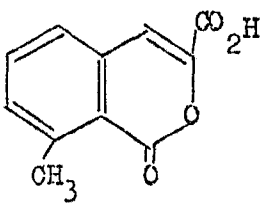
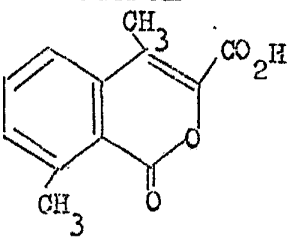
b = La media de la suma de los diámetros de las ampollas producidas en el grupo control de animales para aquellas concentraciones (zonas) del anticuerpo donde todos los animales del grupo de una respuesta inferior al máximo.

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>DOSES</u> (mg/Kg)	<u>Tiempo</u> (min.)	<u>% Inhibición de</u> <u>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>	<u>Dosis (mg./Kg.)</u>	<u>Tiempo (min.)</u>	<u>% Inhibición de respuestas PCA.</u>
	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

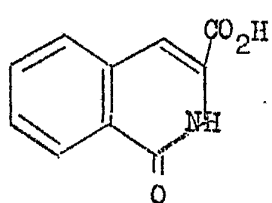
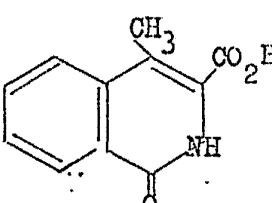
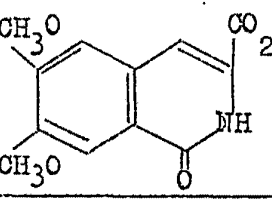
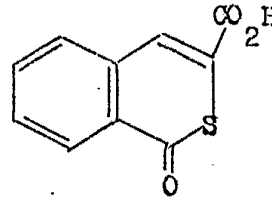
10

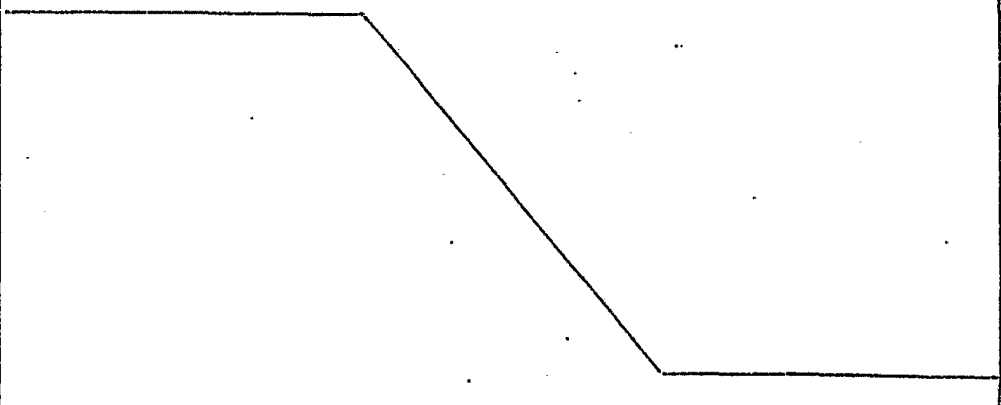
15

20

25

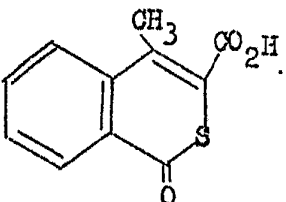
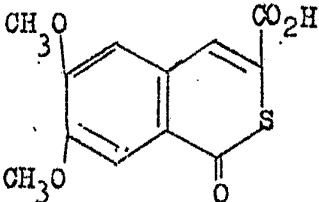
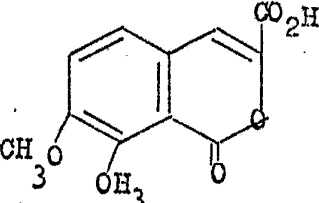
30

<u>EJEMPLO 9</u>	Dosis (mg/Kg.)	Tiempo (min.)	% Inhibición de respuestas PCA.
	25	0	21
	100	0	36
	25	30	15
	100	30	25
<u>EJEMPLO 10</u>			
	25	0	12
	100	0	26
	25	30	13
	100	30	21
<u>EJEMPLO 11</u>			
	25	0	11
	100	0	38
	25	30	2
	100	30	1.7
<u>EJEMPLO 12</u>			
	25	0	0
	100	0	22
	25	60	4
	100	60	14





1

<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

5

10

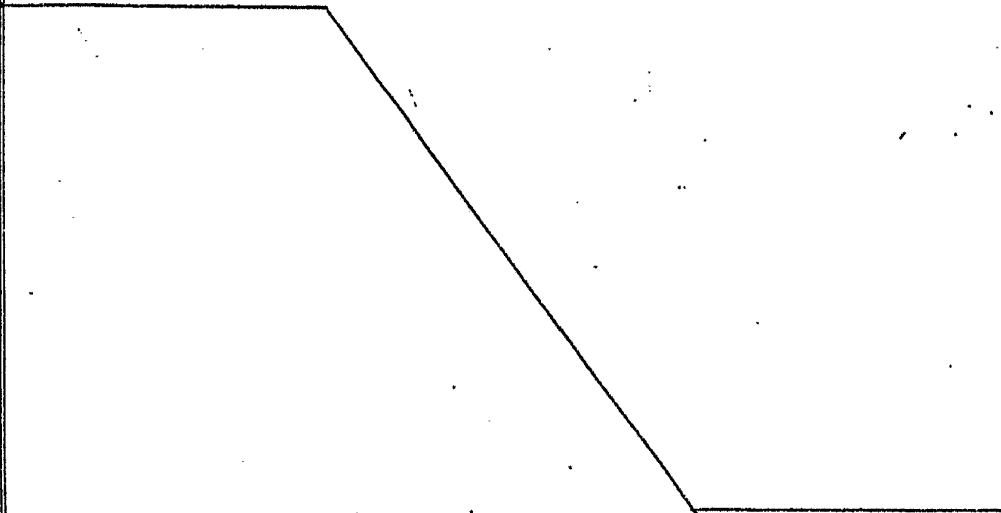
15

20

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

25

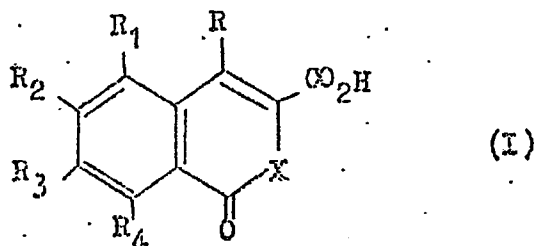
30





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 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 pueden representar el residuo sustituido o insustituido de un sistema carbocíclico o de un sistema de anillo heterocíclico; con la condición de que el compuesto de la fórmula (I) tal como se ha descrito anteriormente aquí, 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

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



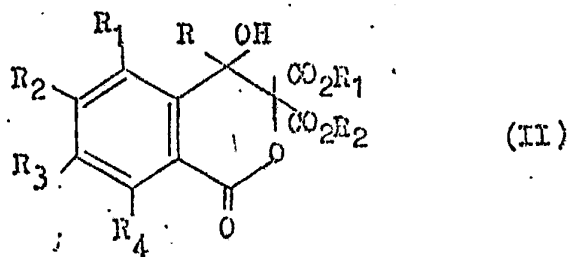
1

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

5

7,8-Dimetoxiisocumarin -3 - ácido carboxílico
cuyo procedimiento comprende el someter a una hidrolisis -
ácida un compuesto de la fórmula (II):

10



15

donde R, R₁, R₂, R₃, y R₄ son tal como aquí anteriormente se definen, con tal de que sean estables a las condiciones escogidas de hidrolisis ácida; y R₁ y R₂ son, separadamente un residuo ester susceptible a una hidrólisis ácida para rendir un compuesto de la fórmula (I), donde X es O; y después si se desea convertir este compuesto, por tratamiento con amoníaco, en el correspondiente compuesto donde X es NH; y también si es necesario convertir el producto en una sal alternativa farmacéuticamente aceptable o en el compuesto de carboxi libre.

20

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

25

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 separadamente etoxi, n- o iso-propoxi, y uno de R₂ y R₃ puede ser metoxi.

30

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



1

mo.

5

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

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de veintiseis páginas mecanografiadas.

10

Madrid, 8 de Julio de 1.976

BERNARDO JINGRIA
P.P.

15

20

25

30