

20 FEB. 1978

ES (11) (21)

NUMERO
467333

(10) A1



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

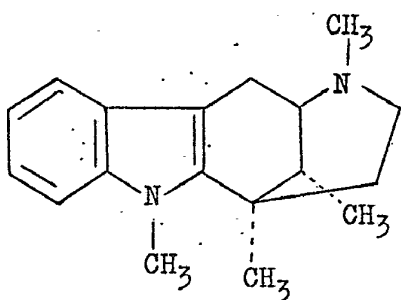
FECHA DE PRESENTACION

27. FEB. 1978

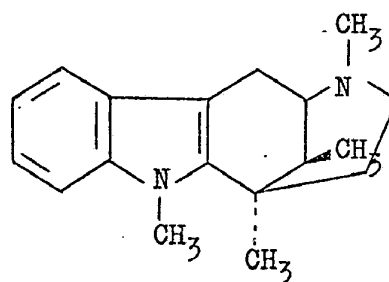
PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
37 FECHA DE PUBLICIDAD	34 CLASIFICACION INTERNACIONAL CO4D/A61K	32 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
34 TITULO DE LA INVENCION "UN PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE LOS ISOMEROS α Y β DEL 2,5,9-TRIMETIL-N-METILINDOLO 2,3- β MORFANO"		
31 SOLICITANTE (S) LABORATORIOS MADE, S.A.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE Avenida de Burgos, Km. 5,850, Madrid-34		
32 INVENTOR (ES) D. Ricardo Granados Jarque, D. Juan Bosch Cartes, Da. Mercedes Alvarez Domingo, Da. Fuensanta Boncompte Pijuan, D. Cristobal Martinez Roldan y D. Fernando Rabadan Feinado.		
33 TITULAR (ES)		
34 REPRESENTANTE DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P.-67.915)		

El presente invento se refiere a un método para la obtención de los isómeros α y β del 2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano de fórmulas I y II, respectivamente,



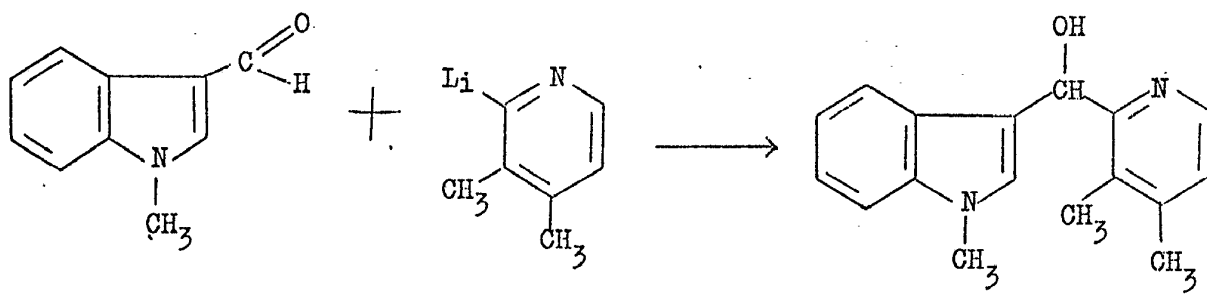
I



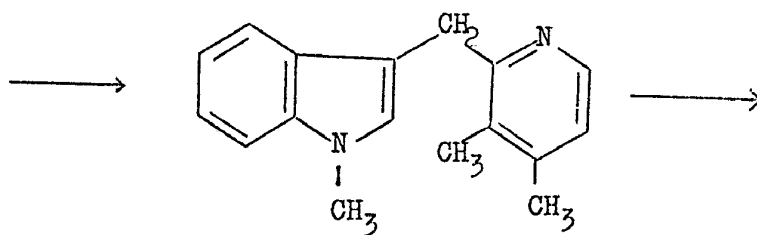
II

sus sales de adición con ácidos farmacológicamente aceptables, por ejemplo los picratos, y a la de cuatro productos intermedios para su preparación: el 1-metil-3-indolil-(3,4-dimetil-2-piridil) carbinol de fórmula III, la 2-(1-metil-3-indolilmetil)-3,4-dimetilpiridina de fórmula IV, la 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil-, 1,2,5,6-tetrahidropiridina de fórmula VI, las sales de adición de los mismos con ácidos farmacológicamente aceptables, por ejemplo los hidroclozuros, y el yoduro de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetilpiridinio de fórmula V.

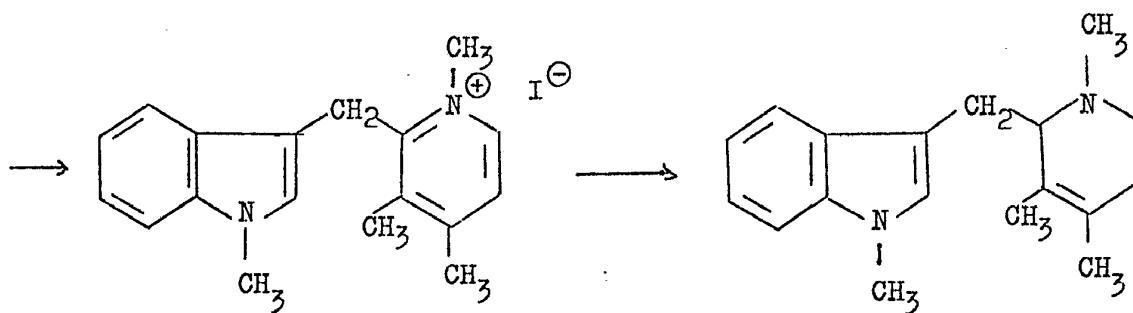
Los compuestos antes citados son sustancias nuevas con posible interés farmacológico como analgésicos, y se obtienen, según el método del invento según la siguiente secuencia de reacciones.



III

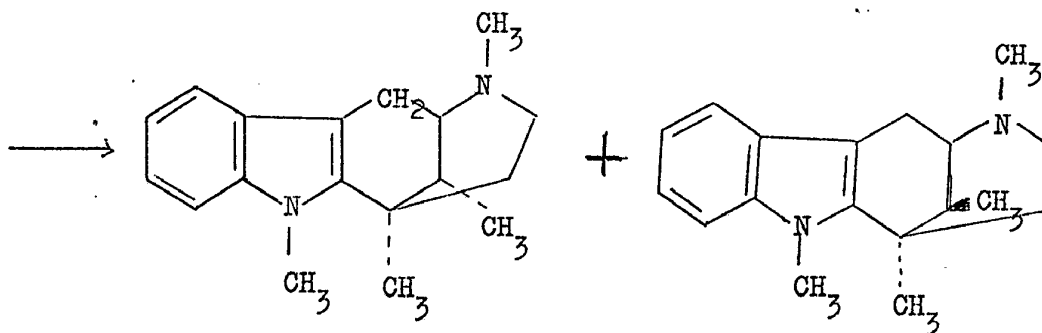


IV



V

VI



I

II

En la primera fase del proceso se hace reaccionar bajo atmósfera inerte 3-formil-1-metilindol disuelto en tetrahidrofurano con 2-bromo-3,4-dimetilpiridina en disolución etérea en presencia de butil litio recientemente preparado. La reacción se realiza entre la temperatura de -40°C mantenida en la adición de butil-litio sobre la 2-bromo-3,4-dimetilpiridina, la de -18°C durante el curso de la reacción con 3-formil-1-metilindol y finalmente a temperatura ambiente al final del proceso. Tras hidrolizar la mezcla resultante se obtiene el 1-metil-3-indolil-(3,4-dimetil-2-piridil)carbinol (III).

En la segunda fase del presente invento, el carbinol (III) anteriormente preparado se transforma en la 2-(1-metil-3-indolilmetil)-3,4-dimetilpiridina de fórmula IV por reacción a temperatura ambiente con borohidruro sódico y trifluoruro de boro-eterato en disolución de diglima. Tras hidrolizar la mezcla resultante por ebullición con metanol se obtiene el compuesto de fórmula IV, que se caracteriza en forma de hidrocloreuro.

En la tercera fase del invento se disuelve el compuesto de fórmula IV en acetona y se trata a reflujo con una disolución bencénica de un halogenuro de metilo, por ejemplo yoduro de metilo, con lo que precipita el yoduro de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetilpiridinio de fórmula V.

Este intermedio se hace reaccionar a continuación con borohidruro sódico en disolución acuoso-metanólica de hidróxido sódico. Después de diluir con agua y extraer con un disolvente orgánico se obtiene la 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil-1,2,5,6-tetrahidropiri-

dina, de fórmula VI, de la que se precipita el hidroclo-
ruro.

Finalmente, en una última etapa del proceso
la tetrahidropiridina VI se calienta a 135°C durante 5
5 horas en presencia de un ácido fuerte, por ejemplo ácido
bromhídrico acuoso al 48%. La mezcla se vierte sobre agua-
hielo, se alcaliniza con hidróxido sódico y se extrae con
un disolvente orgánico proporcionando una mezcla de los
isómeros α y β del 2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f]
10 morfano de fórmulas I y II, respectivamente, que se sepa-
ran por cromatografía en columna de gel de sílice y se
caracterizan en forma de picrato.

Los siguientes ejemplos se dan sólo a título
de ilustración y en ningún modo han de considerarse como
15 limitativos del alcance del invento.

EJEMPLO 1

Obtención de 1-metil-3-indolil-(3,4-dimetil-2-piridil)car-
binol (III).

20 A 44 ml de una disolución etérea de butil-li-
tio 1,2 N previamente enfriada a -40°C se añaden lenta-
mente bajo atmósfera de nitrógeno y con agitación 9,6 grs
de 2-bromo-3,4-dimetilpiridina disueltos en 30 ml de éter
anhidro. La mezcla se agita a esta temperatura durante
25 una hora, se deja que alcance lentamente -18°C y se añaden
con fuerte agitación 10 grs. de 3-formil-1-metilindol di-
sueitos en 35 ml de tetrahidrofurano. Se agita a esta tem-
peratura durante 90 min., al cabo de los cuales se deja
30 alcanzar la temperatura ambiente y se continúa la agita-
ción durante una hora. La mezcla de reacción se hidroliza

con una solución saturada de cloruro amónico y se extrae con cloroformo. La capa orgánica se extrae con ácido clorhídrico 2N hasta pH ácido. La capa acuosa se alcaliniza con hidróxido sódico al 50% y se extrae con cloroformo.

5 Una vez eliminado el disolvente se obtienen 7,2 grs. de 1-metil-3-indolil-(3,4-dimetil-2-piridil)carbinol (III). (Rendimiento 52%) que recristalizado de benceno tiene un punto de fusión: 128-9°C. Análisis: $C_{17}H_{18}N_2O$.

10 Calculado: C, 76,66; H, 6,81; N, 10,52; Hallado: C, 76,72; H, 7,11; N, 10,37.

EJEMPLO 2

Obtención de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-3,4-dimetilpiridina (IV).

15 Sobre 27,5 grs de 1-metil-3-indolil-(3,4-dimetil-2-piridil)carbinol (III) y 8,8 grs de borohidruro sódico en 200 ml de diglima se añaden lentamente y con agitación 43,8 grs de trifluoruro de boro-eterato disueltos en 100 ml de diglima. La mezcla se agita a 20°C du-

20 rante 4 h. 30 min., al cabo de los cuales se elimina el diglima a presión reducida. El residuo resultante se hierve con 1 l. de metanol durante 50 min. Se elimina el metanol a presión reducida y se extrae el producto de reacción con éter y agua. La capa etérea se lava con una disolu-

25 ción acuosa de bicarbonato sódico y luego con agua y se seca con sulfato magnésico anhidro. Una vez eliminado el disolvente se obtienen 18,1 grs (Rendimiento 70%) de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-3,4-dimetilpiridina (IV). Se precipita el hidrocloreuro que recristalizado de acetona

30 tiene un punto de fusión: 231-2°C. Análisis: $C_{17}H_{19}N_2Cl$.

Calculado: C, 71,2; H, 6,63; N, 9,77; Cl, 12,4; Hallado: C, 70,89; H, 6,71; N, 9,88; Cl, 12,74.

EJEMPLO 3

5 Obtención de yoduro de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetilpiridinio (V).

A 18,1 grs de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-3,4-dimetilpiridina (IV) disueltos en 115 ml de acetona anhidra se añaden lentamente 23 ml de yoduro de metilo en 25 ml de benceno anhidro. La mezcla se agita durante 1 h. a temperatura ambiente y 2 h. a reflujo. Una vez alcanzada la temperatura ambiente se mantiene a 50°C durante 12 h. al cabo de las cuales se obtienen por filtración 25,8 grs (Rendimiento 91%) de un sólido amarillento que recristalizado de metanol tiene un punto de fusión: 273-4°C.

15 Análisis: $C_{18}H_{21}N_2I$. Calculado: C, 55,11; H, 5,39; N, 7,14; I, 32,35. Hallado: C, 54,68; H, 5,60; N, 7,13; I, 33,64

EJEMPLO 4

20 Obtención de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil-1,2,5,6-tetrahidropiridina (VI).

A una disolución de 0,66 grs de hidróxido sódico en 20 ml de agua se añaden 200 ml de metanol y 4,52 grs de yoduro de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetilpiridinio (V). Se agita enfriando exteriormente con baño de hielo y se añade 1 gr de borohidruro sódico a pequeñas dosis. Terminada la adición se calienta a reflujo con agitación durante 6h. 30 min. Se elimina el metanol a presión reducida, y la disolución acuosa resultante se extrae con éter. El aceite resultante al evaporar el éter

30

23018

se destila (p. eb. 160°C/0,08 mm Hg), obteniéndose 2,8 grs de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil-1,2,5,6-tetrahidropiridina. (Rendimiento 90%). El hidrocloreuro de dicho compuesto recristalizado de acetona rinde un sólido blanco de punto de fusión 183-4°C. Análisis: $C_{18}H_{25}N_2Cl$.
Calculado: C, 70,92; H, 8,25; N, 9,18; Cl, 11,63.
Hallado: C, 70,62; H, 8,60; N, 8,88; Cl, 11,63.

5

EJEMPLO 5

Obtención de α -2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano(I) y β -2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano (II).

15

Se disuelven 8,8 grs de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil-1,2,5,6-tetrahidropiridina en 110 ml de ácido bromhídrico al 48% y se sumergen en un baño previamente calentado a 135 °C. Se deja a esta temperatura durante 5 horas, al cabo de las cuales se vierte el producto de reacción sobre hielo, se neutraliza con hidróxido amónico concentrado y se extrae con éter. Una vez seco y eliminado el disolvente, se obtienen 5,5 grs. de un aceite que se cromatografía a través de una columna de gel de sílice. Al eluir con cloroformo se obtienen 0,99 g. de β -2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano (II) y al

20

25

eluir con cloroformo-metanol (9:1) se obtienen 3,55 grs de α -2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano (I). (Rendimiento 54%). El compuesto (I) se caracteriza en forma de picrato, que recristalizado de etanol tiene un punto de fusión (descomposición): 192-3°C. Análisis:

30

$C_{24}H_{27}N_5O_7$. Calculado: C, 57,94; H, 5,47; N, 14,08.

Hallado: C, 57,66; H, 5,52; N, 14,02.

El compuesto (II) se caracteriza en forma de hidrocloreuro, que recristalizado de acetona tiene un punto de fusión (descomposición): 199-200°C. Análisis: $C_{18}H_{25}N_2Cl$:

5 Calculado: C, 70,92; H, 8,26; N, 9,19; Cl, 11,63. Hallado: C, 70,61; H, 8,67; N, 9,08 Cl, 11,43.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS DE LOS PRODUCTOS DEL INVENTO

10

Productos

I - isómero alfa

II- isómero beta

III - 1-metil-3-indolil-(3,4-dimetil-2-piridil) carbinol.

15 IV - 2-(1-metil-3-indolilmetil)-3,4-dimetilpiridina.

V - Yoduro de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil piridinio.

VI - 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil-1,2,5,6-tetrahidropiridina.

20

1º - Farmacología del Producto I

A - Estudio comparativo de la toxicidad aguda en ratón albino por vía intraperitoneal

25

Se ha estudiado la toxicidad aguda del producto I comparativamente con el dextropropoxifeno clorhidrato en ratón albino (FFB-CD-1), de 23 ± 2 g de peso.

Sexo de los animales: Ambos sexos

30

Los animales se han mantenido en condiciones ambientales

(temperatura y humedad) reguladas.

El producto se ha administrado por vía i.p. en forma de suspensión al 2,5 y 5% en agua destilada.

5

El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía en forma de solución al 1% en agua destilada.

10

Después de la administración, los animales se han observado a 1 hora y cada día durante una semana.

La dosis letal 50 (DL50) y sus límites de confianza se han obtenido por el método de Litchfield y Wilcoxon.

15

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

Producto	Sexo	DL50 (mg/kg)
Dextropropoxifeno ClH	♂ + ♀	104,5 ± 5,4
I	♂ + ♀	435,0 ± 57,6

20

25

B - Estudio comparativo de la actividad analgésica frente a estímulo térmico en ratón albino por vía intraperitoneal.

30

Se ha estudiado la actividad analgésica uti-

lizando un test antinociceptivo con estímulo térmico en ratón albino (FFB:CD-1), hembras de 22 ± 1 g de peso, del producto I usando el Dextropropoxifeno Clorhidrato como analgésico de referencia.

5 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas. Durante las 18 horas anteriores al ensayo han estado sin alimento y con agua de bebida "ad libitum".

10 Se ha empleado la técnica de la placa caliente (57°C) midiendo el tiempo, en segundos, que ha transcurrido entre el momento en que se coloca el ratón en la placa y el momento en que el animal lame sus patas o salta, según una adaptación de la técnica de Janssen y Jageneau (J. Pharm. Pharmac. 9, 381, 1957).

15 Se ha utilizado un método doble ciego consistente en: 1. El experimentador desconocía los productos de ensayo, que se han numerado previamente de un modo aleatorio y 2. Los productos se han administrado de acuerdo con una secuencia obtenida también aleatoriamente y que se ha cambiado cada día de ensayo.

20 Treinta y quince minutos antes de la administración de los productos, los ratones se han colocado en la placa caliente y se ha determinado el tiempo medio de reacción normal que, en nuestras condiciones experimentales, ha sido de $6,4 \pm 0,3$ segundos. Se han rechazado los animales con tiempos de reacción muy variables o superiores al valor promedio.

25 El producto I se ha administrado por vía i.p. a la dosis de 55 mg/kg. equivalentes a 20 ml/kg de una suspensión al 0,27% en suero fisiológico.

30

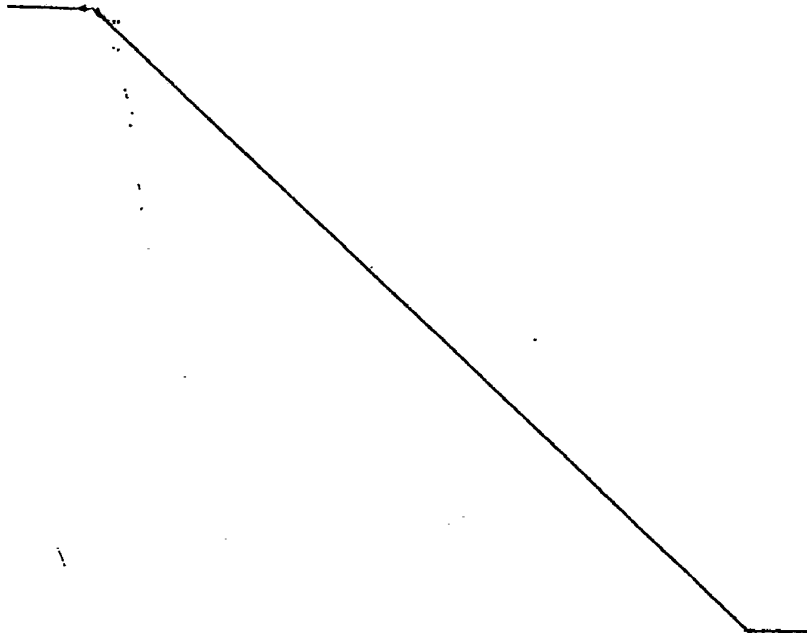
23018

El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía y a la misma dosis, a razón de 20 ml/kg de una solución al 0,275% en suero fisiológico.

5 Los animales del lote control han recibido por la misma vía, 20 ml/kg de peso de una solución de cloruro sódico al 0,9%.

10 A los 30 minutos de la administración del producto se ha colocado nuevamente el animal en la placa caliente y se ha determinado el tiempo de reacción y se ha calculado para cada ratón, el incremento en segundos respecto a su propio tiempo de reacción normal.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:



Tratamiento	Dosis mg/kg	Incremento reaccion $\bar{x} \pm Es. t (1)$	Tiempo (segund)	n	Diferencias con control	Dextropropoxifeno. ClH.
Control	--	-2,7 \pm 2,6		10		
Dextropropoxifeno. ClH	55	5,4 \pm 2,7		10	P < 0,001	
I	55	-1,5 \pm 4,2		10	P > 0,05	P < 0,001

(1) Media \pm límites fiduciales expresados como error standard por t de Student.

El producto I no presenta actividad analgésica frente a estímulo térmico.

C - Estudio comparativo de la actividad analgésica frente a estímulo químico en ratón albino por vía intraperitoneal.

5 Se ha estudiado la actividad analgésica utilizando un test antinociceptivo con estímulo químico en ratón albino (FFB:CD-1), hembras de 20 ± 2 de peso, del producto I usando el Dextropropoxifeno Clorhidrato como analgésico de referencia.

10 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas. Durante las 18 horas anteriores al ensayo han estado sin alimento y con agua de bebida "ad libitum".

15 El estudio se ha llevado a cabo mediante la prueba de las contorsiones (writhing test) contando el número de contorsiones que se producen tras la administración, vía i.p., de ácido acético, según una adaptación de la técnica de Siegmund y otros (Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95, 729, 1957) modificada por Koster y otros (Fed. Proc. 18, 412, 1959).

20 Se ha utilizado un método doble ciego consistente en:

1. El experimentador desconocía los productos de ensayo, que se han numerado previamente de un modo aleatorio y
- 25 2. Los productos se han administrado de acuerdo con una secuencia obtenida también aleatoriamente y que se ha cambiado cada día de ensayo.

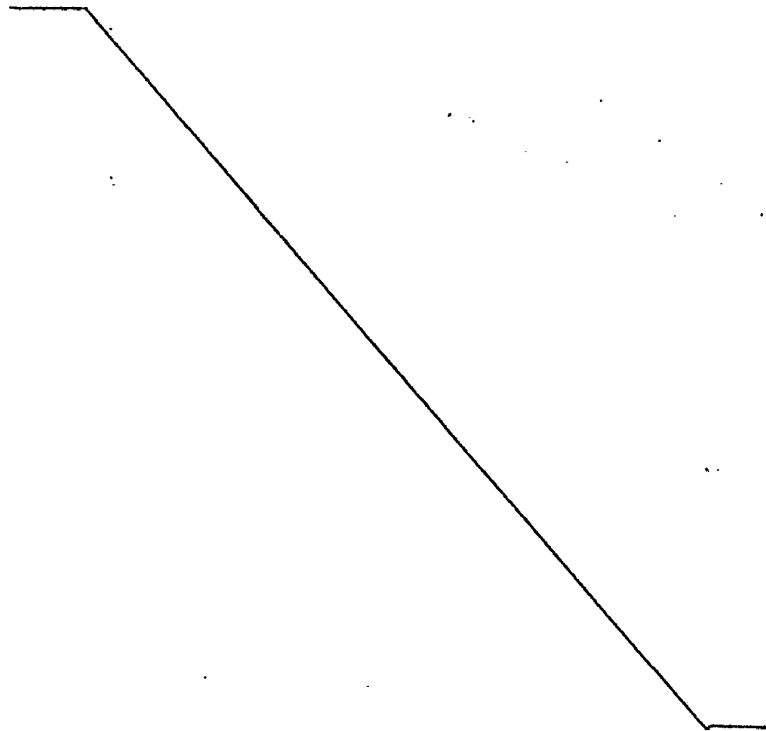
30 El producto I se ha administrado por vía i.p. a la dosis de 25 mg/kg, equivalentes a 10 ml/kg de una solución al 0,25% en agua destilada.

El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía y a la misma dosis, a razón de 10 ml/kg de una solución al 0,25% en agua destilada.

5 Los animales del lote control han recibido, por la misma vía, 10 ml/kg de peso de suero salino al 0,45%.

10 A los 30 minutos de la administración de los productos se han inyectado, por vía i.p., 0,25 ml de una solución de ácido acético al 1% en agua destilada, procediendo a contar el número de contorsiones que se producen entre los 5 y 25 minutos que siguen a la misma.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:



Tratamiento	Dosis mg/kg	Nº Contros. $\bar{x} \pm Es. t (1)$	n	Diferencias con: Control Dextropropoxife- no. CIH.
Control	--	79,4 \pm 4,9	56	
Dextropropoxifeno CIH	25	30,0 \pm 2,2	40	P < 0,001
I	25	56,0 \pm 11,3	10	P < 0,001
				P < 0,001

(1) Media \pm límites fiduciales expresados como error standard por t de Student.

El Producto I presente actividad analgésica frente a estímulo químico, pero ésta es menor que la obtenida por Dextropropoxifeno CIH a la misma dosis en peso.

2º Farmacología del producto IIA - Estudio comparativo de la toxicidad aguda en ratón albino por vía intraperitoneal

5 Se ha estudiado la toxicidad aguda del producto II comparativo con el Dextropropoxifeno Clorhidrato en ratón albino (FFB:CD-1), de 22 ± 2 g de peso.

Sexo de los animales: Ambos sexos.

10 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas.

El producto se ha administrado por vía i.p. en forma de suspensión al 2,5 y 5% en agua destilada.

15 El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía en forma de solución al 1% en agua destilada.

Después de la administración, los animales se han observado a 1 hora y cada día durante una semana.

20 La dosis letal 50 (DL50) y sus límites de confianza se han obtenido por el método de Litchfield y Wilcoxon.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

25 Productos	Sexo	DL50 (mg/kg)
Dextropropo. ClH	♂ + ♀	$100,8 \pm 4,4,$
30 II	♂ + ♀	> 420

B - Estudio comparativo de la actividad analgésica frente a estímulo térmico en ratón albino por vía intraperitoneal

5 Se ha estudiado la actividad analgésica utilizando un test antinociceptivo con estímulo térmico en ratón albino (FEB:CD-1), hembras de 19 ± 2 g de peso, del producto II usando el Dextropropoxifeno Clorhidrato como analgésico de referencia.

10 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas. Durante las 18 horas anteriores al ensayo han estado sin alimento y con agua de bebida "ad libitum".

15 Se ha empleado la técnica de la placa caliente (57°C) midiendo el tiempo, en segundos, que ha transcurrido entre el momento en que se coloca el ratón en la placa y el momento en que el animal lame sus patas o salta, según una adaptación de la técnica de Janssen y Jégeneau (J. Pharm. Pharmac. 9, 381, 1957).

20 Se ha utilizado un método doble ciego consistente en:

1. El experimentador desconocía los productos de ensayo, que se han numerado previamente de un modo aleatorio y
 2. Los productos se han administrado de acuerdo con una secuencia obtenida también aleatoriamente y que se ha
- 25 cambiado cada día de ensayo.

30 Treinta y quince minutos antes de la administración de los productos, los ratones se han colocado en la placa caliente y se ha determinado el tiempo medio de reacción normal que, en nuestras condiciones experimentales, ha sido de $6,4 \pm 0,3$ segundos. Se han rechaza-

do los animales con tiempos de reacción muy variables o superiores al valor promedio.

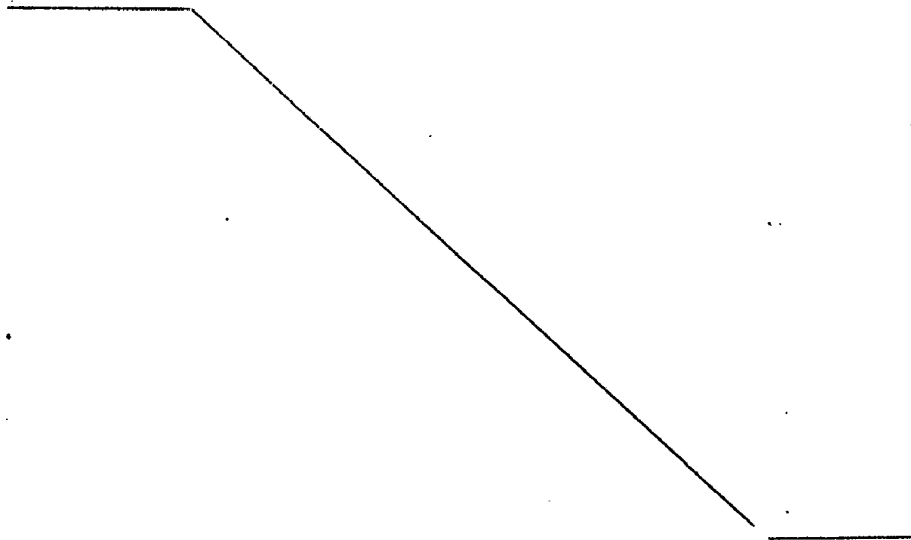
5 El producto II se ha administrado por vía i.p. a la dosis de 55 mg/kg, equivalentes a 20 ml/kg de una suspensión al 0,275% en suero fisiológico.

El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía y a la misma dosis, a razón de 20 ml/kg de una solución al 0,275% en suero fisiológico.

10 Los animales del lote control han recibido por la misma vía; 20 ml/kg de peso de una solución de cloruro sódico al 0,9%.

15 A los 30 minutos de la administración del producto se ha colocado nuevamente el animal en la placa caliente y se ha determinado el tiempo de reacción y se ha calculado, para cada ratón, el incremento en segundos respecto a su propio tiempo de reacción normal.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:



Tratamiento	Dosis mg/kg	Incremento reacción $\bar{x} \pm Es. t (1)$	Tiempo (segund)	n	Diferencias con: Control	Dextropropoxif. ClH
Control	--	0,9 \pm 0,9		35		
Dextropropoxifeno ClH	55	5,7 \pm 2,5		10	P < 0,001	
II	55	-0,6 \pm 2,3		10	P > 0,05	P < 0,001

(1) Media \pm límites fiduciales expresados como error standard por t de Student.

El producto II no presenta actividad analgésica frente a estímulo térmico.

C - Estudio comparativo de la actividad analgésica frente a estímulo químico en ratón albino por vía intraperitoneal

5 Se ha estudiado la actividad analgésica utilizando un test antinociceptivo con estímulo químico en ratón albino (FFB:CD-1), hembras de 20 ± 2 g de peso, del producto II usando el Dextropropoxifeno Clorhidrato como analgésico de referencia.

10 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas. Durante las 18 horas anteriores al ensayo han estado sin alimento y con agua de bebida "ad libitum".

15 El estudio se ha llevado a cabo mediante la prueba de las contorsiones (writhing test) contando el número de contorsiones que se producen tras la administración, vía i.p., de ácido acético, según una adaptación de la técnica de SIEGMUND y otros (Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95, 729, 1957) modificada por Koster y otros (Fed. Proc. 18, 412, 1959).

20 Se ha utilizado un método doble ciego consistente en:

1. El experimentador desconocía los productos de ensayo, que se han numerado previamente de un modo aleatorio y
 2. Los productos se han administrado de acuerdo con una secuencia obtenida también aleatoriamente y que se ha cambiado cada día de ensayo.
- 25

El producto II se ha administrado por vía i.p. a la dosis de 25 mg/kg, equivalentes a 10 ml/kg de una solución al 0,25% en agua destilada.

30 El Dextropropoxifeno se ha administrado por

la misma vía y a la misma dosis, a razón de 10 ml/kg de una solución al 0,25% de agua destilada.

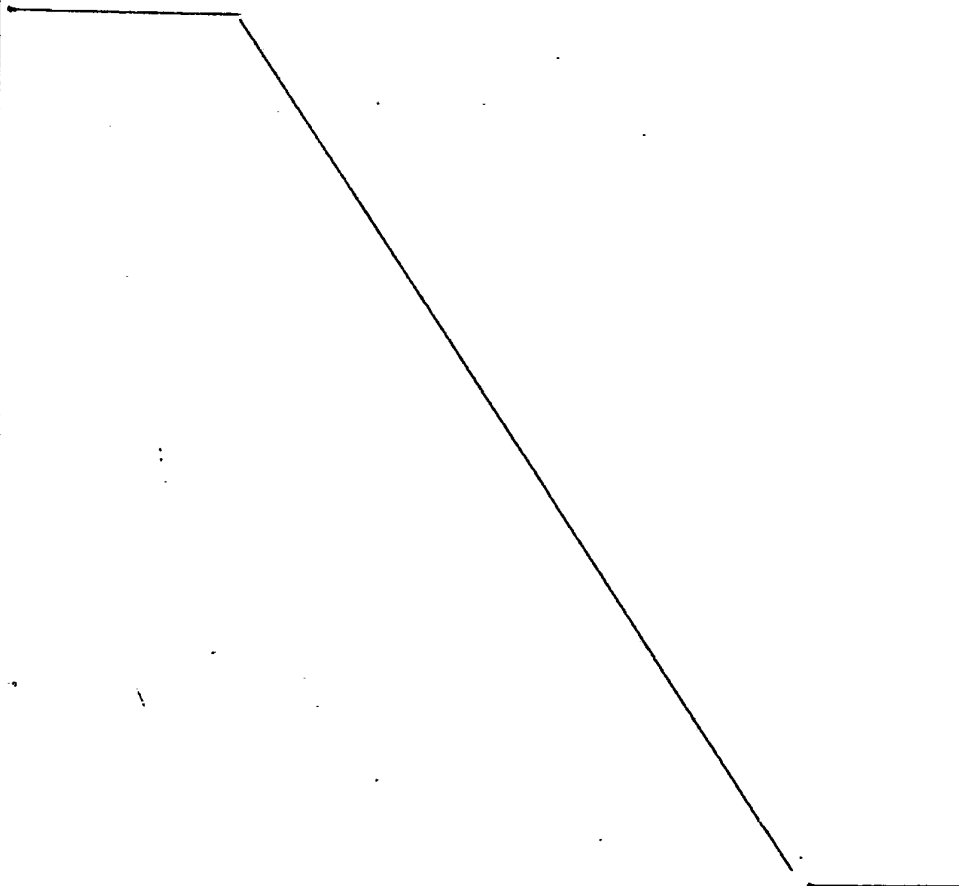
Los animales del lote control han recibido, por la misma vía, 10 ml/kg de peso de suero salino al 0,45%.

5

A los 30 minutos de la administración de los productos se han inyectado, por vía i.p., 0,25 ml de una solución de ácido acético al 1% en agua destilada, procediendo a contar el número de contorsiones que se producen entre los 5 y 25 minutos que siguen a la misma.

10

Los resultados obtenidos se resumen a continuación.



Tratamiento	Dosis mg/kg	Nº contors. $\bar{x} \pm \text{Est.t (1)}$	n	Diferencias con: Control Dextropropoxif. ClH
Control	--	64,4 \pm 7,9	18	
Dextropropoxifeno ClH	25	26,1 \pm 7,5	16	P < 0,001
II	25	50,3 \pm 17,3	12	P > 0,05 P < 0,01

(1) Media \pm límites fiduciales expresados como error standard por t de Student.

El producto II no presenta actividad analgésica frente al estímulo químico.

3º - Farmacología del producto III

A - Toxicidad Aguda

1º - Material y Métodos

5 Animal de experimentación.- Se utilizan ratones I.C.R.

Swiss de 28 ± 2 g de peso, mantenidos en ayunas durante las 24 horas anteriores a la experiencia.

Condiciones ambientales

10 Temperatura: $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Humedad relativa: 50 - 55%

Vía de administración. El producto se administra en solución acuosa y por vía intraperitoneal.

15 El tiempo de observación se prolonga hasta las 48 horas siguientes a la administración del producto.

2º Resultados

20 De los datos obtenidos experimentales y por aplicación del método estadístico de Litchfield-Wilcoxon se obtienen los resultados que se expresan en el siguiente cuadro.

	mg/r	mg/kg		mg/r	mg/r		
DL84	10	285					
5	DL50	7,6	217	Límites de confianza	Superior	9,1	250
					Inferior	6,3	180
	DL ₁₆	5,8	165				

10

Pendiente de la curva: 1,31 Límites de confianza

Superior: 1,52

Inferior: 1,04

B y C Estudio de la actividad analgésica Producto III

15

Material y Métodos

Se ha estudiado la actividad analgésica del compuesto III con el Hot plate y el Writhing test.

20

Con la técnica del Hot plate test, se ha administrado el Producto III a 20 ratones machos, a la dosis de 1 mg/ratón (suspensión en goma arábica al 1%) por vía intraperitoneal observándose el tiempo de lamido y saltos a los 30, 60, 120 y 180 minutos de la administración del producto III. Como testigo se ha utilizado un lote de 20 ratones machos a los que se ha administrado por vía intraperitoneal 0,5 ml de goma arábica al 1%.

25

Para la técnica del Writhing, se ha administrado una suspensión en goma arábica al 1% del Producto III por vía intraperitoneal a la dosis de 1 mg/ratón, a 10 ratones machos, y a los 30 minutos, también por vía intraperitoneal se les ha administrado una dosis de 0,25 ml/ratón

30

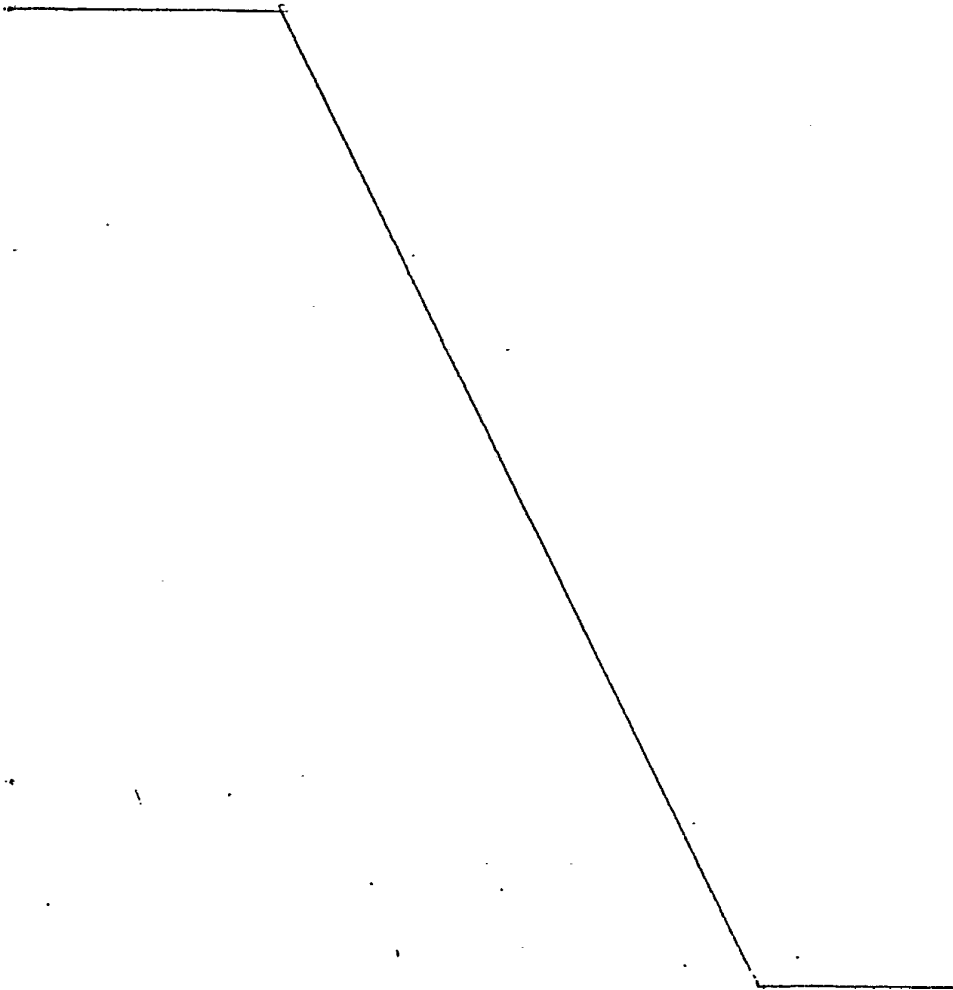
23018

de ácido acético al 1%. Como testigos se utiliza un lote de 10 ratones machos a los que se ha administrado por vía intraperitoneal una dosis de 0,25 ml/ratón de ácido acético al 1%.

5

Resultados

En el cuadro siguiente expresamos los valores medios obtenidos, el error Standard de la media y el grado de significación para cada experimento.



Hot Plate test. (referido a tiempo de salto)

Tiempos en minutos	30	60	120	180	P
Testigos	25,2 ± 1,88	16,45 ± 1,59	6,80 ± 0,67	27,65 ± 3,04	
Problemas	24,05 ± 1,59	27,25 ± 3,00	11,90 ± 1,50	33,05 ± 3,60	< 0,005

Writhing test

Nº de retorcimientos ± S.E.M.	P
Testigos 101,5 ± 4,58	
Problemas 63,6 ± 10,75	< 0,005

Discusión

El compuesto III a la dosis utilizada tiene actividad analgésica con el Writhing test del ácido acético y con test del Hot plate.

5

4º Farmacología del producto IVA - Toxicidad Aguda Producto IV

Animal de experimentación: Ratones albinos I.C.R. Swiss, hembras de 20 ± 2 g

10

Vía de administración: intraperitoneal

Solubilidad: agua

Resultados:

$$DL_{50} = 271,1 \text{ mg/kg}$$

15

B - Analgesia Térmica Producto IV

Técnica: Placa caliente a 55°C . Se mide el tiempo de salto

20

Animal de experimentación: Ratones albinos I.C.R. Swiss ♀ de 20 ± 2 g de peso 10 animales/lote

Vía de administración: Intraperitoneal a volumen constante 0,25 ml/animal

Solubilidad: en H_2O

Dosis: 30 mg/kg durante 30 minutos

25

Fármaco de comparación: Dextropropoxifeno en las mismas condiciones experimentales.

Resultados

Vienen expresados en la siguiente tabla.

Tratamiento	Tiempos medios de salto (seg) \pm error standard de la media	Significac. Control	Estadistic. Dextropropoxif.
Control	50,3 \pm 8,28	-----	-----
Dextroprop.	93,4 \pm 15,23	P < 0,05	-----
Producto IV	69 \pm 9,18	No sig.	No Sig.

Conclusión

En las condiciones experimentales probadas el Producto IV mostró una actividad analgésica significativa.

C - Analgesia Química Producto IV

Técnica: Writhing test ácido acético %

Animal de experimentación: Ratonos albinos I.C.R.

Swiss, hembras, de 25 ± 2 g

5 Vía de administración: intraperitoneal

Dosis: 25 mg/kg

Tiempo de observación: 30 minutos

Resultados

10

Tratamiento	Nº de retorcimientos $\bar{x} \pm$ S.E.M.	Significación Diferencias	
		Controles	Dextropropoxifen.
Control	$98,3 \pm 5,942$	---	---
Producto IV	$65,9 \pm 4,936$	$p < 0.001$	$p < 0.01$
Dextroprop.	$43,7 \pm 5,492$	$p < 0.00005$	---

15

20

El producto IV tiene actividad analgésica, pero de menor potencia que el dextropropoxifeno.

5º Farmacología del Producto V

25

A - Estudio comparativo de la toxicidad aguda en ratón albino por vía intraperitoneal

Se ha estudiado la toxicidad aguda del producto V comparativamente con el Dextropropoxifeno Clorhidrato en ratón albino (FFB:CD-1), de 20 ± 2 g de peso.

Sexo de los animales: Machos

30

Los animales se han mantenido en condiciones ambientales

(temperatura y humedad) reguladas.

El producto se ha administrado por vía i.p. en forma de suspensión al 0,325% en agua destilada.

5 El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía en forma de solución al 1% en agua destilada.

Después de la administración, los animales se han observado a 1 hora y cada día durante una semana.

10 La dosis letal 50 (DL50) y sus límites de confianza se han obtenido por el método de Litchfield y Wilcoxon.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

Producto	Sexo	(DL50 mg/kg)
Dextropropoxif. ClH	♂ + ♀	104,5 ± 5,4
V	♂	33,0 ± 4,0

B - Estudio comparativo de la toxicidad aguda en ratón albino por vía intraperitoneal.

25 Se ha estudiado la toxicidad aguda del producto V comparativamente con el Dextropropoxifeno Clorhidrato en ratón albino (FFB:CD-1), de 22 ± 1 g de peso.

Sexo de los animales: Hembras.

Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas.

30 El producto se ha administrado por vía i.p.

en forma de suspensión al 0,5% en agua destilada.

El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía en forma de solución al 1% en agua destilada.

Después de la administración, los animales se han observado a 1 hora y cada día durante una semana.

La dosis letal 50(DL50) y sus límites de confianza se han obtenido por el método de Litchfield y Wilcoxon.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación.

Producto	Sexo	DL50 (mg/kg)
Dextropropoxifeno CLH	♂ + ♀	104,5 ± 5,4
V	♀ +	42,0 ± 1,7

Dada la toxicidad aguda obtenida, tanto en machos como en hembras, no ha sido posible estudiar la actividad analgésica frente a estímulo térmico, para el que se utilizan dosis de 55 ó 60 mg/kg, que son las mínimas con diferencia estadísticamente significativa para el Dextropropoxifeno.

C - Estudio comparativo de la actividad analgésica frente a estímulo químico en ratón albino por vía intraperitoneal

Se ha estudiado la actividad analgésica utili-

zando un test antinociceptivo con estímulo químico en ratón albino (FFB:CD-1), hembras de 21 ± 2 g de peso, del producto V usando el Dextropropoxifeno Clorhidrato como analgésico de referencia.

5 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas. Durante las 18 horas anteriores al ensayo han estado sin alimento y con agua de bebida "ad libitum".

10 El estudio se ha llevado a cabo mediante la prueba de las contorsiones (writhing test) contando el número de contorsiones que se producen tras la administración, vía i.p., de ácido acético, según una adaptación de la técnica de Siegmund y otros (Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95, 729, 1957) modificada por Koster y otros (Fed. Proc. 18, 412, 1959).

15 Se ha utilizado un método doble ciego consistente en:

1. El experimentador desconocía los productos de ensayo, que se han numerado previamente de un modo aleatorio y
- 20 2. Los productos se han administrado de acuerdo con una secuencia obtenida también aleatoriamente y que se ha cambiado cada día de ensayo.

25 El producto V se ha administrado por vía i.p. a la dosis de 30 mg/kg equivalentes a 10 ml/kg de una suspensión al 1% en carboximetilcelulosa al 1%.

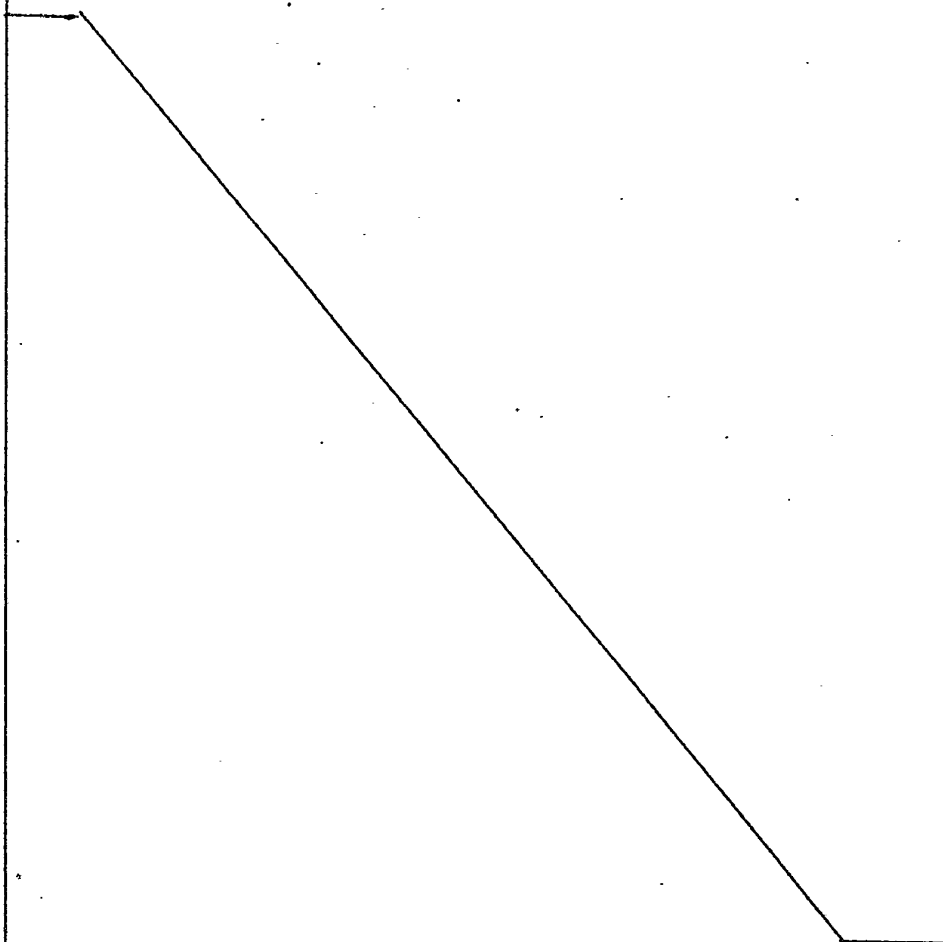
El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía y a la misma dosis, a razón de 10 ml/kg de una solución al 0,3% en agua destilada.

30 Los animales del lote control han recibido, por la misma vía, 10 ml/kg de peso de suero salino al 0,45%.

5

A los 30 minutos de la administración de los productos se han inyectado, por vía i.p., 0,25 ml de una solución de ácido acético al 1% en agua destilada, procediendo a contar el número de contorsiones que se producen entre los 5 y 25 minutos que siguen a la misma.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:



Tratamiento	Dosis mg/kg	Nº contors. - ± Es. t (1) x	n	Diferencias con: Control Dextropropoxif. CLH
Control	---	79,4 ± 4,9	56	
Dextropropoxifeno CLH	30	23,1 ± 5,3	38	P < 0,001
V	30	39,1 ± 17,4	10	P < 0,001 P < 0,01

(1) Media ± límites fiduciales expresados como error standard por t de Student.

El producto V presenta actividad analgésica frente a estímulo químico, pero ésta es menor que la obtenida con Dextropropoxifeno CLH a la misma dosis en peso.

6^o Farmacología del Producto VIA - Estudio comparativo de la toxicidad aguda en ratón albino por vía intraperitoneal.

Se ha estudiado la toxicidad aguda del producto VI comparativamente con el Dextropoxifeno Clorhidrato en ratón albino (FFB:CD-1), de 24 ± 2 g de peso.

Sexo de los animales: Ambos sexos.

Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas.

El producto se ha administrado por vía i.p. en forma de solución al 1% en agua destilada.

El Dextropoxifeno se ha administrado por la misma vía en forma de solución al 1% en agua destilada.

Después de la administración, los animales se han observado a 1 hora y cada día durante una semana.

La dosis letal 50 (DL50) y sus límites de confianza se han obtenido por el método de Litchfield y Wilcoxon.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

Producto	Sexo	DL50 (mg/kg)
Dextroprop. ClH	♂ + ♀	$104,5 \pm 5,4$
VI	♂ + ♀	$68,3 \pm 4,8$

B - Estudio comparativo de la actividad analgésica frente a estímulo térmico en ratón albino por vía intraperitoneal.

5 Se ha estudiado la actividad analgésica utilizando un test antinociceptivo con estímulo térmico en ratón albino (FFB:CD-1) hembras de 22 ± 1 g de peso, del producto VI usando el Dextropropoxifeno Clorhidrato como analgésico de referencia.

10 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas. Durante las 18 horas anteriores al ensayo han estado sin alimento y con agua de bebida "ad libitum".

15 Se ha empleado la técnica de la placa caliente (57°C) midiendo el tiempo, en segundos, que ha transcurrido entre el momento en que se coloca el ratón en la placa y el momento en que el animal lame sus patas o salta, según una adaptación de la técnica de Janssen y Jageneau (J. Pharm. Pharma. 9, 381, 1957).

20 Se ha utilizado un método doble ciego consistente en:

1. El experimentador desconocía los productos de ensayos, que se han numerado previamente de un modo aleatorio y
 2. Los productos se han administrado de acuerdo con una secuencia obtenida también aleatoriamente y que se ha cambiado cada día de ensayo.
- 25

Treinta y quince minutos antes de la administración de los productos, los ratones se han colocado en la placa caliente y se ha determinado el tiempo medio de reacción normal que, en nuestras condiciones experimentales, ha sido de $6,4 \pm 0,3$ segundos. Se han rechazado los

30

animales con tiempos de reacción muy variables o superiores al valor promedio.

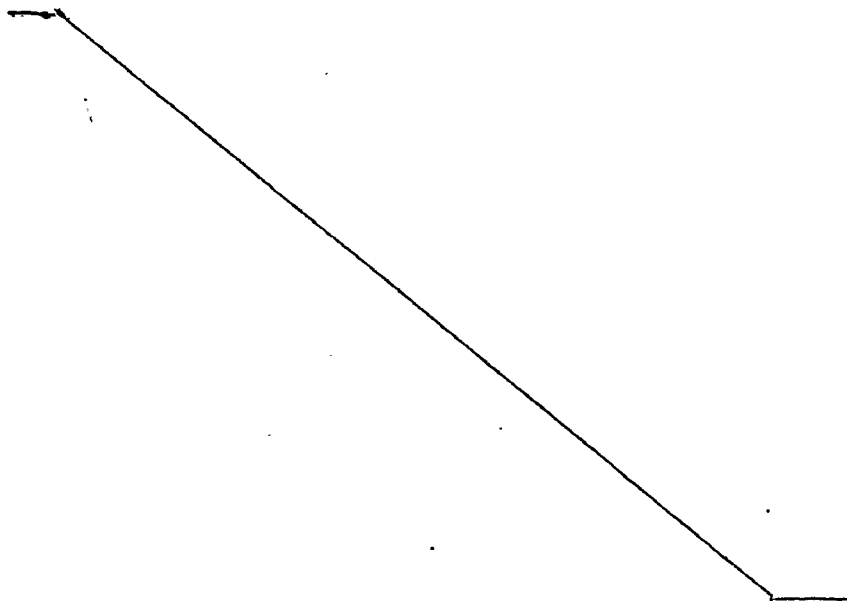
El producto VI se ha administrado por vía i.p. a la dosis de 55 mg/kg, equivalentes a 10 ml/kg de una solución al 0,55% en suero fisiológico.

El Dextropropoxifeno se ha administrado por la misma vía y a la misma dosis, a razón de 10 ml/kg de una solución al 0,55% en suero fisiológico.

Los animales del lote control han recibido por la misma vía, 10 ml/kg de peso de una solución de cloruro sódico al 0,9%.

A los 30 minutos de la administración del producto se ha colocado nuevamente el animal en la placa caliente y se ha determinado el tiempo de reacción y se ha calculado, para cada ratón, el incremento en segundos respecto a su propio tiempo de reacción normal.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación:



Tratamiento	Dosis mg/kg	Incremento tiempo reacción (segund) $\bar{x} \pm Es. t (1)$	n	Diferencias con control Dextropropoxi- feno ClH.
Control	--	0,9 \pm 0,9	35	
Dextropropoxi- feno ClH	55	5,7 \pm 2,5	10	P < 0,001
VI	55	34,5 \pm 24,8	10	P < 0,001

(1) Media \pm límites fiduciales expresados como error standard por t de Student.

El producto VI presenta actividad analgésica, frente a estímulo térmico, mayor que Dextropropoxifeno. ClH a la misma dosis en peso.

C - Estudio comparativo de la actividad analgésica frente a estímulo químico en ratón albino por vía intraperitoneal

5 Se ha estudiado la actividad analgésica utilizando un test antinociceptivo con estímulo químico en ratón albino (FFB:CD-1), hembras de 24 ± 2 g de peso, del producto VI usando el Dextropropoxifeno Clorhidrato como analgésico de referencia.

10 Los animales se han mantenido en condiciones ambientales (temperatura y humedad) reguladas. Durante las 18 horas anteriores al ensayo han estado sin alimento y con agua de bebida "ad libitum".

15 El estudio se ha llevado a cabo mediante la prueba de las contorsiones (writhing test) contando el número de contorsiones que se producen tras la administración, vía i.p., de ácido acético, según una adaptación de la técnica de Siegmund y otros (Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95, 729, 1957) modificada por Koster y otros (Med. Proc. 18, 412, 1959).

20 Se ha utilizado un método doble ciego consistente en:

1. El experimentador desconocía los productos de ensayo, que se han numerado previamente de un modo aleatorio y
 2. Los productos se han administrado de acuerdo con una secuencia obtenida también aleatoriamente y que se ha cambiado cada día de ensayo.
- 25

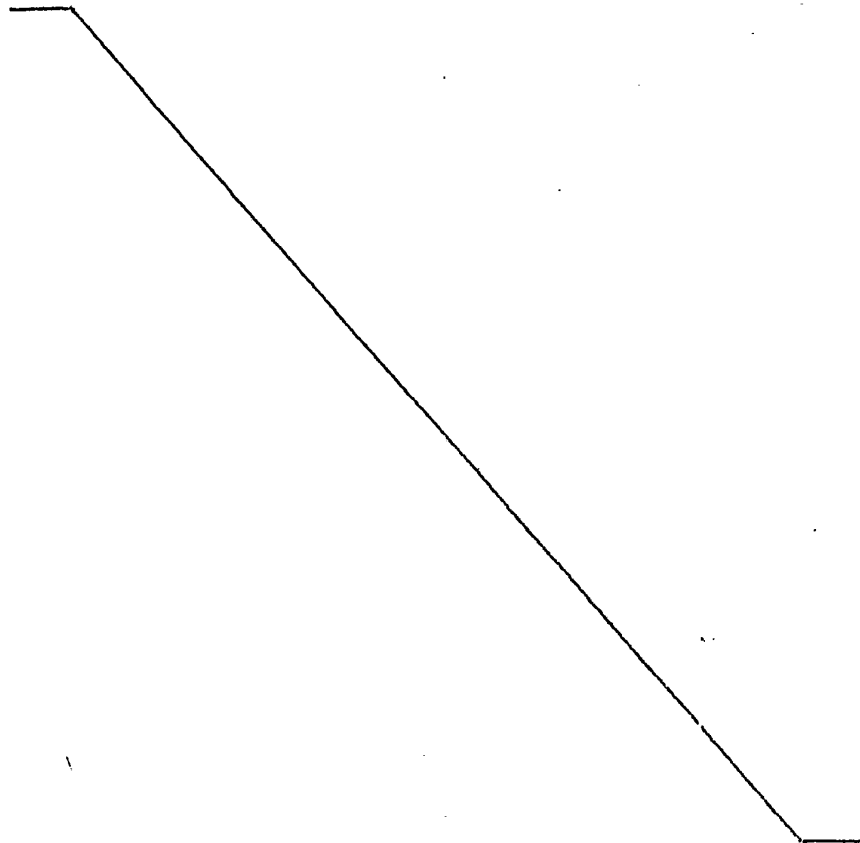
El producto VI se ha administrado por vía i.p. a la dosis de 30 mg/kg equivalentes a 10 ml/kg de una solución al 0,3% en agua destilada.

30 Los animales del lote control han recibido,

por la misma vía, 10 ml/kg de peso de suero fisiológico al 0,45%.

5 A los 30 minutos de la administración de los productos se han inyectado por vía i.p., 0,25 ml de una solución de ácido acético al 1% en agua destilada, procediendo a contar el número de contorsiones que se producen entre los 5 y 25 minutos que siguen a la misma.

Los resultados obtenidos se resumen a continuación.



Tratamiento	Dosis mg/kg	Nº Contorsiones $\bar{x} \pm \text{Es. t (1)}$	n	Diferencias con control Dextropropoxife- no ClH
Control	---	79,4 \pm 4,9	56	
Dextropropoxifeno ClH	30	23,1 \pm 5,3	38	P < 0,001
VI	30	59,6 \pm 12,0	10	P < 0,01 P < 0,001

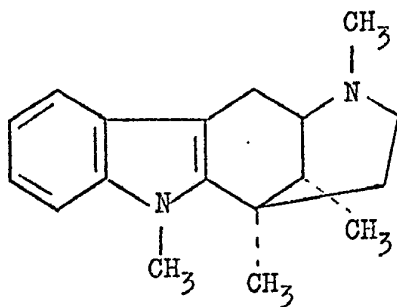
(1) Media \pm límites fiduciales expresados como error standard por t de Student.

El producto VI presenta actividad analgésica frente a estímulo químico, pero éste es menor que la obtenida con Dextropropoxifeno ClH a la misma dosis en peso.

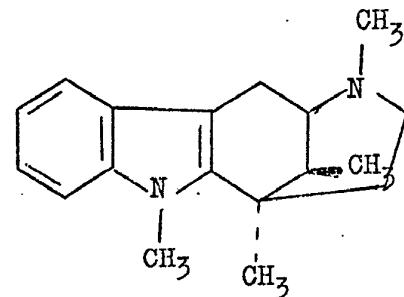
REIVINDICACIONES

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

1ª.- Un procedimiento para la obtención de los isómeros α y β del 2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano, de fórmulas I y II, respectivamente

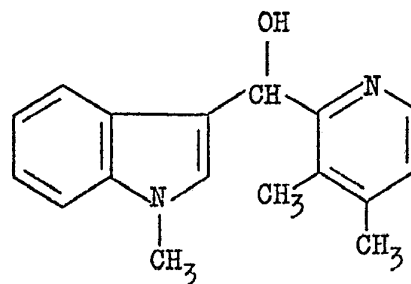


I



II

caracterizado porque en una primera etapa de síntesis se hace reaccionar bajo atmósfera inerte 3-formil-1-metilindol con 2-bromo-3,4-dimetilpiridina en presencia de butil-litio a la temperatura de -40°C , mantenida en la adición del butil-litio sobre la 2-bromo-3,4-dimetilpiridina, de -18°C durante el curso de la reacción con 3-formil-1-metilindol y a temperatura ambiente al final del proceso con lo que se obtiene el 1-metil-3-indolil-(3,4-dimetil-2-piridil) carbinol de fórmula III,

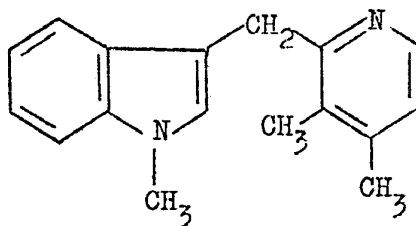


III

23018

que en una segunda etapa de síntesis se hace reaccionar con borohidruro sódico y trifluoruro de boro-eterato en disolución de diglima con lo que se obtiene la 2-(1-metil-3-indolilmetil)-3,4-dimetilpiridina, de fórmula IV.

5

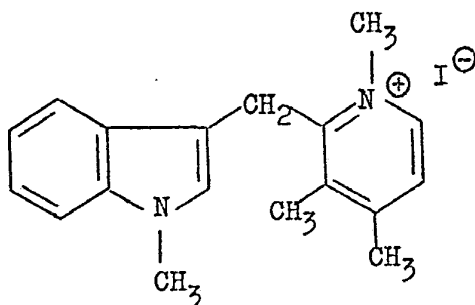


10

IV

dicho compuesto IV en una tercera etapa de síntesis se hace reaccionar con un halogenuro de metilo, por ejemplo yoduro de metilo, con lo que se convierte en el yoduro de 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetilpiridinio de fórmula V.

15

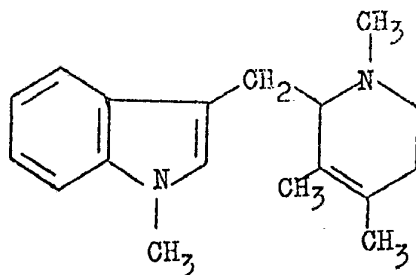


20

V

el cual por reducción con borohidruro sódico en disolución acuoso-metanólica de hidróxido sódico se transforma en la 2-(1-metil-3-indolilmetil)-1,3,4-trimetil-1,2,5,6-tetrahidropiridina de fórmula VI,

25



VI

5

la cual, en una última etapa de síntesis, se calienta a 135°C en presencia de un ácido fuerte, por ejemplo, ácido bromhídrico con lo que se obtiene una mezcla de los isómeros α y β del 2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano de fórmulas I y II, respectivamente, que se separan por cromatografía en columna de gel de sílice.

10

2ª.- Un procedimiento para la obtención de los isómeros α y β del 2,5,9-trimetil-N-metilindolo [2,3-f] morfano.

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

Esta Memoria consta de cuarenta y cuatro hojas escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, 27.FEB.1978

P.A.

Alberto de Elzoburu
Folleto