

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

20 SET. 1978

ES

11

NUMERO
401742

AI

21

22

FECHA DE PRESENTACION

10-3-78

Concedido el Registro de acuerdo con los usos de la presente descripción y con el contenido de la memoria adjunta.

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO 77/07842	32 FECHA 16-3-77	33 PAIS Francia
--	---------------------	--------------------

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D//A61K	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	--	--------------------------------------

54 TITULO DE LA INVENCION "PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE N-OXI-AJMALINA"

71 SOLICITANTE (S) SOCIETE D'ETUDES ET DE RECHERCHES ENZYMOLOGIQUES ET PHARMACOLOGIQUES - ENZYPHA E.4649-RC/ JPK/PL
--

DOMICILIO DEL SOLICITANTE 15, rue Géo Chavez, 75020 Paris, Francia

72 INVENTOR (ES) Jacques Peyroux y Michel Koch

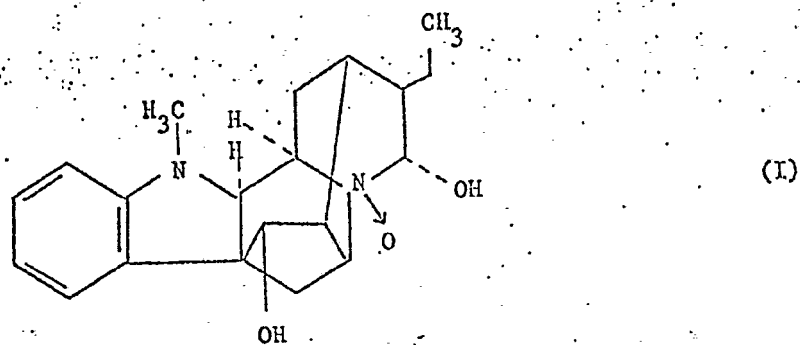
73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE D. ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P.- 68.414)

El presente invento tiene como objeto un procedimiento de preparación de la N-oxi-ajmalina.

La N-oxi-ajmalina según el invento responde a la fórmula I:

5

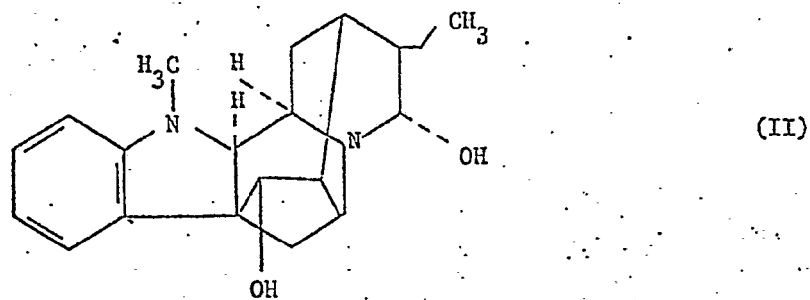


10

15

El procedimiento según el invento consiste en oxidar la ajmalina de fórmula II

20



25

06038

El oxidante que puede emplearse en este procedimiento es indiferentemente un peróxido tal como peróxido de hidrógeno, o un perácido, tal como ácido metacloroperbenzoico.

5 Los modos de preparación siguientes se dan a título de ejemplo para ilustrar el invento

EJEMPLO 1 : N-oxi-ajmalina

10 Se ponen en suspensión, con agitación, 10 g de ajmalina en 135 cm³ de etanol de 96%. Se añaden progresivamente 15 cm³ de peróxido de hidrógeno de 110 volúmenes. El medio se solubiliza progresivamente. Si la solubilización no está completa al cabo de una media hora, se añaden progresivamente algunas gotas de peróxido de hidrógeno hasta disolución total. Se prosigue la agitación durante aproximadamente 1 a 3 horas y luego, tras una filtración eventual, se abandona la solución a la temperatura ambiente durante algunos días (aproximadamente 4 días).

15 20 Se forma progresivamente un precipitado cristalino de N-oxi-ajmalina.

Se recogen los cristales y se les lava con ayuda de un poco de etanol y luego abundantemente con éter (6 a 10 veces).

25 Se secan luego los cristales bajo vacío fosfórico durante 24 a 48 horas a la temperatura ordinaria, ele-

vando luego progresivamente la temperatura a 80 hasta 100°C hasta peso constante.

Se obtienen 9,650 g de cristales.

5 Además, las aguas madres concentradas proporcionan cristales que son tratados como precedentemente.

Se obtienen así 0,250 g de cristales.

El peso total de cristales que se han obtenido es por lo tanto de 9,9 g.

Rendimiento: 94%;

10 Punto de fusión 168-170°C;

Fórmula empírica $C_{20}H_{26}O_3N_2$;

Espectro de masas : m/e 342 (M+).

15 Tratada con virutas de hierro, en solución en ácido acético al 0,5%, la N-oxi-ajmalina se reduce para formar ajmalina.

EJEMPLO 2

20 200 mg de ajmalina son disueltos en un disolvente orgánico tal como cloroformo o una mezcla de cloroformo y metanol (5 ml). Se añade lentamente una solución de 200 mg de ácido metacloroperbenzoico en 5 ml del mismo disolvente orgánico, con agitación, siendo enfriada la mezcla en hielo. La cinética de la reacción es vigilada por cromatografía en capa delgada (placa de gel de sílice alcali
25 na; disolvente: $CHCl_3$ 90 - MeOH 10). Al mismo tiempo que

la N-oxi-ajmalina, se forman productos secundarios más polares, en proporción ya importante, mientras que la totalidad de la ajmalina todavía no se ha transformado. La solución obtenida es diluida con cloroformo, lavada con una solución acuosa de KHCO_3 al 15%, secada, filtrada y destilada hasta sequedad. El residuo obtenido, cromatografiado sobre una columna de sílice de actividad V, permite aislar 104 mg de N-oxi-ajmalina. (rendimiento 49,5 %).

El compuesto de fórmula I ha sido ensayado con animales de laboratorio y ha manifestado propiedades antidisrítmicas, una buena tolerancia cardíaca y una toxicidad muy débil.

1ª) Propiedades antidisrítmicas

Han sido puestas en evidencia en ratones con las fibrilaciones inducidas por inhalación de cloroformo (ensayo de Lawson) y en perros con las arritmias provocadas por ligadura de una arteria coronaria, y la taquicardia inducida por la uabaína.

Ensayo de Lawson

El protocolo seguido es el propuesto por Vargaftig y Coignet (Eur. J. Pharmacol. 1969, 6, 49).

Se utilizan ratones convencionales hembras (18-20 g) repartidos al azar en lotes de 20 animales. Los productos son administrados por vía intraperitoneal (0,4 ml/

/20 g) 2 minutos antes de la inhalación del cloroformo. Una toracotomía practicada en el momento de la detención respiratoria permite comprobar la presencia o la ausencia de fibrilaciones.

5 Se determinan en estas condiciones las dosis eficaces 50 de los dos compuestos de referencia, a saber la quinidina (dosis sucesivamente ensayadas: 15, 30 y 60 mg/kg) y clorhidrato de ajmalina (10, 20 y 40 mg/kg) así como del compuesto según el invento (20, 40 y 80 mg/kg).

10 Los resultados se indican en la Tabla I siguiente:

TABLA I

15

Compuestos ensayados	DE 50 y límites de confianza ^x en mg/kg (p = 0,05)	
Quinidina	23	(16,4 - 32,2)
Ajmalina (clorhidrato)	21	(13,1 - 33,6)
Compuesto según el invento	29	(18,1 - 46,4)
x Según Litchfield y Wilcoxon		

20

25

Arritmia por ligadura de una arteria coronaria en perros

5 Se utiliza una técnica de ligadura en una so
la vez según el protocolo propuesto por Gosnier y Grimal
(J. Pharmacol, 1973, 4, 273-8). El ensayo se ha efectua-
do con 11 perros bastardos con un peso comprendido entre
8 y 17 kg.

10 Se ensaya así un compuesto de referencia, el
clorhidrato de ajmalina (nombre comercial: Cardioritmina
R) y el compuesto según el invento. Son administrados por
perfusión lenta (10 minutos), el primero en dosis de 3 y
6 mg/kg y el segundo en dosis de 5, 10 y 30 mg/kg.

15 El número de complejos sinusoidales es recon-
tado en los momentos de 2, 5 y 10 minutos después de la
perfusión en dos períodos de 1 minuto con un minuto de in-
tervalo, y en los momentos 15, 30, 45 y 60 minutos en tres
períodos de 1 minuto, siempre con un minuto de intervalo.

20 Se determina así el porcentaje de aumento del
número de los complejos y se aprecia la actividad de los
productos según una calificación arbitraria inspirada por
la propuesta por Cosnier y Grimal.

0 de 0 a 10 % de aumento con relación a la medición
testigo efectuada antes de la administración del pro-
ducto.

0,5 de 10 a 50% de aumento

25 1 más de 50 % de aumento

- 1,5 más de 50% de aumento con un período de un minuto al menos superior a 90%
- 2 ritmo sinusoidal puro durante al menos un minuto.

5 Los resultados se indican en las Tablas II y III siguientes.

TABLA II : Clorhidrato de ajmalina

Perro N ^o	Actividad en las dosis de:	
	3 mg/kg	6 mg/kg
1	1,5	
2	0,5	1
3	0	0,5
4	1,5	
Total	3,5	1,5
máximo teórico	8	4

20

25

06038

TABLA III : compuesto según el invento

5	Perro N.º	Actividad en las dosis de:		
		5 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg
	5	1		
	6	0	0,5	1
	7	0	0	
10	8	1	1,5	
	9	0,5	0	1
	10	0	0	1
	11	1,5	1	
15	Total	4	3	3
	máximo teórico	14	12	6

Tagicardia ventricular con uabaina en perros

20 Esta propiedad ha sido estudiada utilizando la técnica de LUCCHESI (J.P.E.T. 1965, 148, 94-99) según el protocolo propuesto por GIUDICELLI (J. Pharmacol, París, 1973, 4, 139-142)

25 El ensayo ha sido realizado con 15 perros bastardos de ambos sexos, con un peso comprendido entre 8

y 15 kg.

Los animales son anestesiados con Nembutal (35 mg/kg/i.v.), los productos son inyectados por vía i.v. y la uabaína es administrada en solución acuosa.

5 Una vez ha sido establecida la taquicardia, los productos a ensayar son perfundidos en solución en el soluto fisiológico a razón de 1 mg/kg por ml y por minuto del compuesto según el invento, y de 1 mg/kg por dos ml y por minuto para el compuesto de comparación, a saber la
10 cloroacetil-ajmalina.

Los resultados obtenidos son expuestos en la Tabla III' siguiente. Se comprueba que el compuesto según el invento manifiesta una actividad tan elevada como la de la cloroacetil-ajmalina.

15 2ª) Tolerancia cardíaca

El estudio del registro del electrocardiograma muestra que la primera modificación observada sobre el trazado durante la perfusión es un ensanchamiento del espacio P.R. y una disminución de la frecuencia cardíaca.
20 Se ha vigilado la evolución de estos dos parámetros por el tiempo. Los resultados figuran en las Tablas IV y V siguientes.

25

06038

TABLA III

Compuesto ensayado	Número de animales		Dosis en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de uabaina que ha provocado la taquicardia $m \pm s m$	Dosis en mg/kg que ha provocado el retorno a un ritmo sinusoidal durante 30 minutos $m \pm s m$
	Total	Tomados en cuenta		
Compuesto según el invento	8	6	$74,00 \pm 4,97$	$12,8 \pm 2,96$
Cloroacetil-ajmalina	7	7	$75,00 \pm 5,69$	$12,6 \pm 3,97$

TABLA III

Compuesto ensayado	Número de animales			Dosis en $\mu\text{g}/\text{kg}$ que ha provocado cardia $m \pm s m$
	Total	Tomados en cuenta	Protegidos	
Compuesto según el invento	8	6	5	$74,00 \pm 4$
Cloroacetil-ajmalina	7	7	5	$75,00 \pm 5$

06038

TABLA III

ales	Dosis en γ /kg de uabaina que ha provocado la taqui cardia	Dosis en mg/kg que ha provo- cado el retorno a un ritmo sinusoidal durante 30 minutos
Protegidos	m \pm s m	m \pm s m
5	74,00 \pm 4,97	12,8 \pm 2,96
5	75,00 \pm 5,69	12,6 \pm 3,97

TABLA IV : aumento del espacio FR

(calculado sobre el promedio de los resultados obtenidos, en valor absoluto, con relación al valor inicial y expresado en l/1000 de segundo)

Tiempo en minutos	Ajmalina (clorhidrato)		Compuesto según el invento 20 mg/kg/min.
	2,5 mg/kg/min.	5 mg/kg/min.	
0,5	3,4	10	2
1	17,6	18	2,5
2	24,2	27	4
3	28,6	30	8
4	30,4	37	9
5	35,4	47	12,5
6	40,4	57	17
7	33,6	67	23
8	33,6	67	28
9	42,2	67	30
10	43	77	30
12	48,6		33
14	52,6		38
16	57,6		40
18	59,6		47
20	62,6		
22	65,6		

TABLA IV : aumento del espacio PR

(calculado sobre el promedio de los resultados obtenidos, en valor absoluto, con relación al valor inicial y expresado en 1/1000 de segundo)

Tiempo en minutos	Ajmalina (clorhidrato)		Cloroacetyl-a 5 mg/kg/min
	2,5 mg/kg/min.	5 mg/kg/min.	
0,5	3,4	10	2,5
1	17,6	18	5
2	24,2	27	7,5
3	28,6	30	16,6
4	30,4	37	20
5	35,4	47	18
6	40,4	57	24
7	33,6	67	22,5
8	33,6	67	26
9	42,2	67	24
10	43	77	26
12	48,6		30
14	52,6		35
16	57,6		
18	59,6		
20	62,6		
22	65,6		

os resultados
 i relación al
 000 de segundo)

drato)	Cloroacétil-ajmalina	Compuesto según eã invento
5 mg/kg/min.	5 mg/kg/min.	20 mg/kg/min.
10	2,5	2
18	5	2,5
27	7,5	4
30	16,6	8
37	20	9
47	18	12,5
57	24	17
67	22,5	23
67	26	28
67	24	30
77	26	30
	30	33
	35	38
		40
		47

TABLA V : Disminución de la frecuencia cardíaca (calculado en el promedio de los resultados obtenidos, en valor absoluto, con relación al valor inicial y expresado en latidos por minuto)

Tiempo en minutos	Ajmalina (clorhidrato)		Cloroacetil-ajmalina 5 mg/kg/min.	Compuesto según el invento 20 mg/kg/min.
	2,5 mg/kg/min.	5 mg/kg/min.		
0,5			15	20
1	12	33	30	28
2	16	55	42	40
3	22	74	55	48
4	12	78	57	61
5	24	83	55	62
6	20	133	55	72
7	38	182	57	88
8	36	193	59	99
9	53	160	57	110
10	56	183	58	116
12	68	208	67	133
14	98		72	151
16	88		77	162
18	118			175
20	133			
22	153			
	183			

TABLA V : Disminución de la frecuencia cardíaca (calculado en el promedio de los resultados obtenidos, en valor absoluto, con relación al valor inicial y expresado en latidos por minuto)

Tiempo en minutos	Ajmalina (clorhidrato)		Cloroacetil- 5 mg/kg/m
	2,5 mg/kg/min.	5 mg/kg/min.	
0,5	12	33	15
1	16	55	30
2	22	74	42
3	12	78	55
4	24	83	57
5	20	133	55
6	38	182	55
7	36	193	57
8	53	160	59
9	56	183	57
10	68	208	58
12	98		67
14	88		72
16	118		77
18	133		
20	153		
22	183		

ca (calcula-
obtenidos,
valor inicial

to)	Cloroacetil-ajmalina	Compuesto según el invento
/kg/min.	5 mg/kg/min.	20 mg/kg/min.
33	15	20
55	30	28
74	42	40
78	55	48
83	57	61
133	55	62
182	55	72
193	57	88
160	59	99
183	57	110
208	58	116
	67	133
	72	151
	77	162
		175

3º) Toxicidad aguda

La toxicidad aguda ha sido determinada en ratones por vía oral (DL_{50}) y en ratas por perfusión lenta (D.M.M.).

5

Determinación de la DL_{50} P.O. en ratones

La toxicidad aguda del compuesto según el invento ha sido determinada por vía oral en lotes de 10 ratones machos y 10 ratones hembras de la especie Swiss EOPS en comparación con el clorhidrato de ajmalina.

10

La mortalidad ha sido comprobada 7 días después de administración y no se ha observado mortalidad retardada.

Los resultados se indican en la Tabla VI.

15

TABLA VI

Compuestos	DL ₅₀ y límites de confianza en mg/kg (p = 0,05) x	
	macho	hembra
Según el invento	> 3 400	> 3 400
Clorhidrato de ajmalina	500 (381-656)	560 (425-736)
x Determinado por el método de Litchfield y Wilcoxon (J. Pharmacol. 1949, 96, 99-119)		

25

06038

Determinación de la dosis mínima mortal (DMM) en ratas

La DMM ha sido determinada en una rata hembra EOPS. Los animales con un peso comprendido entre 350 y 400 g son anestesiados con uretano (1,25 g/kg). Las sustancias en solución en el soluto fisiológico son perfundidas a razón de 0,5 ml por minuto en la vena yugular. El electrocardiograma es registrado en desviación DII.

Los efectos del compuesto según el invento (20 mg/kg/minuto) son comparados con los del clorhidrato de ajmalina (2,5 y 5 mg/kg/minuto) y del clorhidrato de cloro-2-acetil-ajmalina (5 mg/kg/minuto).

Los resultados están consignados en la Tabla VII siguiente.

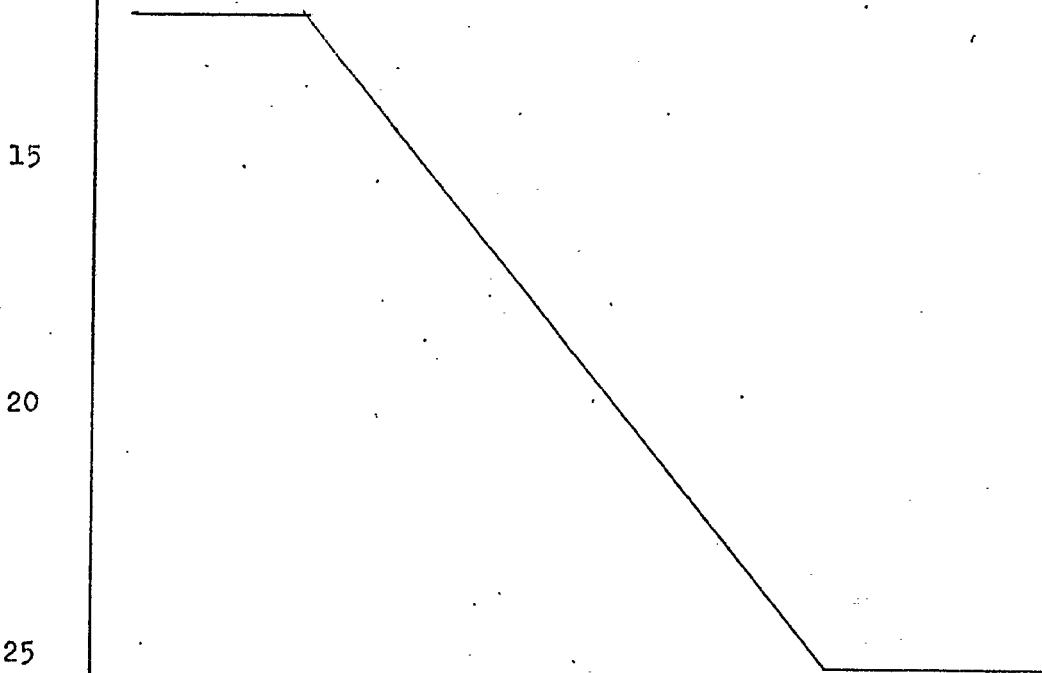
TABLA VII : Dosis mínima mortal

Producto	Dosis en mg/kg/minuto	Número de animales/lote	DMM en mg/kg $m \pm sm$
Clorhidrato de ajmalina	2,5	6	65,3 \pm 2,70
	5	6	66,5 \pm 11,3
Cloro-acetil-ajmalina (clorhidrato)	5	6	119,6 \pm 18
Compuesto según el invento	20	6	476- \pm 51,3

Las Tablas VI y VII ponen perfectamente en evidencia la débil toxicidad del compuesto según el invento.

5 La N-oxi-ajmalina es oportuna para el tratamiento de las perturbaciones del infarto de miocardio y de la taquicardia ventricular y supraventricular..

10 Será administrada por vía oral en forma de comprimidos, grageas o cápsulas de gelatina (1 a 1,5 g de principio activo por día en 4 a 6 tomas) o por vía intravenosa (150 a 200 mg de principio activo por día en 2 a 3 inyecciones lentas).

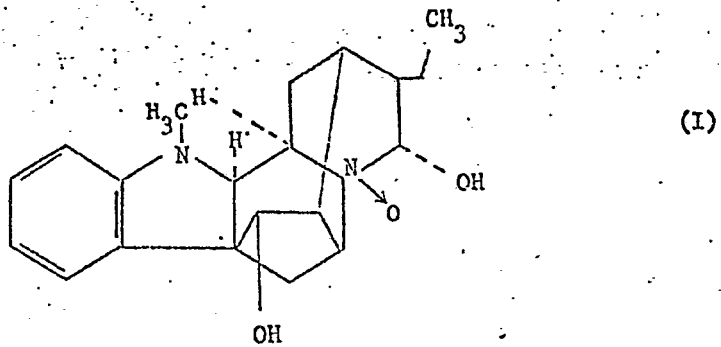


REIVINDICACIONES

5

1ª.- Procedimiento de preparación de N-oxi-ajmalina de fórmula I

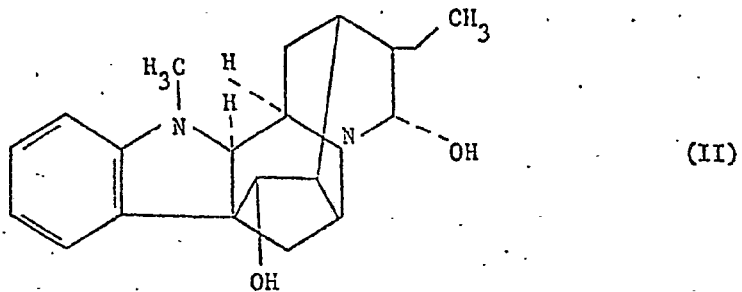
10



15

caracterizado porque consiste en oxidar la ajmalina de fórmula II

20



25

2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque el oxidante empleado se escoge en el grupo que comprende los peróxidos y los perácidos.

5 3ª.- Procedimiento según la reivindicación 2ª, caracterizado porque el oxidante es peróxido de hidrógeno.

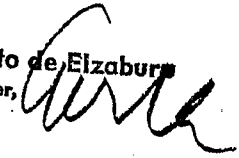
4ª.- Procedimiento de preparación de N-oxi-
-ajmalina.

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

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

15 Madrid, 10. MAR 1978

P.A.

Alberto de Elizaburu
Por Poder, 

20

25

06038

MPB.-