



ESPAÑA

ES 408462 A1

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
31-MARZO-1978

PATENTE DE INVENCION

40 PRIORIDADES:	42 FECHA	43 PAIS
41 NUMERO		
36101/1976	2-4-1976	JAPON
82458/1976	13-7-1976	JAPON
83522/1976	15-7-1976	JAPON

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	52 PATENTE DE LA QUE SE DIVISIONARIA
	CO 7 D	Nº 457.421 de 31-3-77

44 TITULO DE LA INVENCION

" UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS DERIVADOS DE PIRIDINA "

71 SOLICITANTE (ES)

CHUGAI SAIYAKU KABUSHIKI KAISHA

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

No. 5-1, 5-chome, Ukima, Kita-ku, Tokyo - JAPON

72 INVENTOR (ES)

Hiroyuki Nagano; Takashi Mori; Sakae Takaku; Isao Matsunaga; Tatsuo Kujirai; Toshichika Ogasawara; Shigeru Sugano y Minoru Shindo, todos de nacionalidad japonesa.

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU

CM.-

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

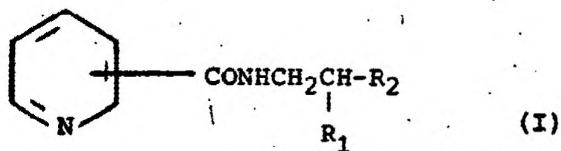
Un compuesto representado por la fórmula



donde R_1 y R_2 son los definidos más adelante, un procedimiento para la preparación del compuesto y una composición farmacéutica para el tratamiento de las enfermedades circulatorias que contiene el compuesto.

COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

Esta invención se refiere a nuevos derivados de piridina, a un procedimiento para la preparación de los mismos y a composiciones farmacéuticas. Más especialmente, esta invención se refiere a derivados de piridina representados por la fórmula:



donde R_1 es hidrógeno, alquilo inferior u $-\text{ONO}_2$ y R_2 es $-\text{ONO}_2$ o $-\text{CH}_2\text{ONO}_2$ o sus sales; a un procedimiento para su preparación y a composiciones farmacéuticas que contienen los derivados o sus sales.

Algunos derivados del ácido nicotínico o de la nicotinamida han sido citados en algunas referencias, por ejemplo en la patente japonesa 1624/1976, en las patentes estadounidenses 3.092.634 y 3.168.438 y en "Mie Medical Journal" vol. 16 (3), págs. 207-211 (1967). En la patente japonesa se describe la preparación de los derivados de ésteres ni-

1 cotínicos por reacción de 1-nicotinil-glicerina o de 1-ni-
cotinil-2,3-isopropiliden-glicerina con ácido nítrico fuman-
te, para obtener el 2,3-dinitrato de 1-nicotinil-glicerina
y después conversión del compuesto en su compuesto de adi-
5 ción de dioxano, que ejerce actividad vasodilatadora coro-
naria.

En las patentes estadounidenses 3.092.634 y 3.168.438
se indica que el éster bis-nítrico de la N,N-bis(β -hidroxi-
etil)nicotinamida, que ejerce una acción vasodilatadora co-
ronaria, se prepara por reacción del éster nítrico de la
10 dietanolamina con el cloruro del ácido nicotínico.

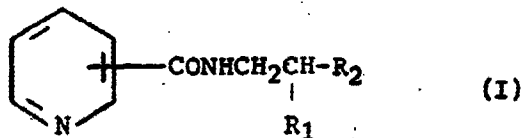
Sin embargo, los compuestos citados ejercen una ac-
ción a corto plazo o una acción adversa sobre la presión
sanguínea o función cardíaca y, por lo tanto, no son sufi-
15 cientes como droga estimulante del sistema circulatorio,
por ejemplo en el caso de la isquemia cardíaca. En estas
circunstancias, es deseable la puesta a punto de un droga
ideal.

En "Mie Medical Journal", vol. 16 (3), págs. 207-
20 211 (1967), se menciona el 2-nicotinamido-etanol. Sin embar-
go, este compuesto se cita simplemente como compuesto de
ensayo de la acción antitumoral y en la publicación no se
cita ninguna acción farmacológica notable.

Los autores de esta invención han investigado y ensa-
25 yado durante largo tiempo para encontrar un compuesto útil
para las enfermedades circulatorias y finalmente completaron
esta invención.

La invención se refiere a compuestos representados
por la fórmula:

30



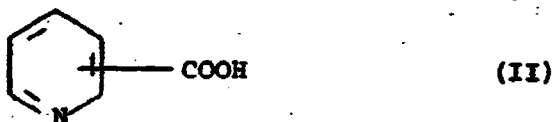
5 donde R_1 y R_2 son los definidos anteriormente y sus sales, a un procedimiento para su preparación y a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos o sus sales.

10 Los compuestos de esta invención o sus sales son nuevos y ejercen acciones mejoradas en el tratamiento de las enfermedades circulatorias, tales como acción vasodilatadora coronaria, acción antihipertensora, acción antiarrítmica, acción anticoagulante y acción vasodilatadora periférica y, por lo tanto, son útiles para el tratamiento de la isquemia

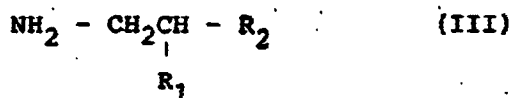
15 cardíaca, como droga antihipertensora, como droga anticoagulante, como droga antiarrítmica y como vasodilatadores periféricos, incluida la vasodilatación cerebral y la vasodilatación renal.

20 De acuerdo con esta invención, los compuestos de fórmula (I) pueden ser preparados por uno de los siguientes métodos:

(1) Se hace reaccionar un compuesto de fórmula

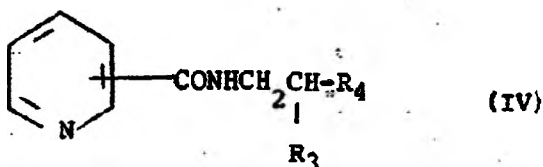


25 o su derivado funcional en el grupo carboxilo con un compuesto de fórmula



30 donde R_1 y R_2 son los definidos anteriormente o con su derivado funcional en el grupo amino y

1 (2) Se hace reaccionar con un agente nitrante un com-
puesto de fórmula



donde R_3 es hidrógeno, alquilo inferior o hidroxilo y R_4 es hidroxilo o $-CH_2OH$.

10 Los derivados funcionales de los compuestos (II) en el grupo carboxilo son, por ejemplo, los haluros, los anhídridos, las amidas, los ésteres activos y similares. Los derivados normalmente utilizados son los cloruros, las azidas, los anhídridos como los obtenidos a partir de 2 moles del compuesto (II) y los anhídridos del compuesto con otro ácido, por ejemplo ácidos dialquilsulfónicos, ácido fenilsulfónico, ácido difenilsulfónico, ácido bencilsulfónico, ácidos sulfónicos halogenados, ácidos dialquilsulfonosos, ácido sulfuroso, ácido tiosulfónico, ácido sulfónico, ácidos alquil carbónicos, ácidos grasos como ácido pivalico, ácido pentanoico, ácido isopentanoico, ácido 2-etilbutanoico o ácido tricloroacético o ácidos carboxílicos aromáticos como ácido benzoico; amidas, por ejemplo amidas con imidazol, imidazol 4-sustituído, dimetilpirazol, triazol o tetrazol y ésteres, por ejemplo éster cianometílico, éster 4-nitrofenílico, éster 2,4-dinitrofenílico, éster tricloro fenílico, éster pentaclorofenílico, éster metanosulfonilfenílico, éster fenilazofenílico, éster feniltio, éster 4-nitrofeniltio, éster p-cresiltio, éster carboximetiltio, éster piranfílico, éster piridílico, éster 8-quinoliltio y ésteres con N,N-dimetilhidroxilamina, 1-hidroxil-2-(1H)-piridona, N-hidroxisuccinimida o N-

15

20

25

30

1 hidroxiftalimida.

5 Los compuestos de partida (III) pueden ser utilizados como forma activa en el grupo amino que puede ser activado utilizando tricloruro de fósforo, clorofosfito de etilo, clorofosfito de metilo o similares.

10 El procedimiento definido en el método (1) anterior puede ser llevado a cabo, por ejemplo, haciendo reaccionar un derivado reactivo del compuesto (II) en el grupo carboxilo con el compuesto (III) para condensarlos a una temperatura comprendida entre -10 y 50°C, preferiblemente entre 0 y 10°C, durante 0,5 a 4 horas. Los disolventes que pueden utilizarse para esta reacción son agua, benceno, tolueno, tetrahidrofurano, éter dietílico, dioxano, dimetilformamida, cloroformo, cloruro de metileno, acetonitrilo, acetona, tetracloruro de carbono, acetato de etilo y similares. Puede utilizarse un acelerante de la reacción de condensación, por ejemplo sustancias básicas inorgánicas como hidróxidos, carbonatos o acetatos de metales alcalinos o alcalino-térreos, tales como acetato sódico, carbonato sódico, acetato potásico, carbonato potásico, hidróxido sódico, acetato cálcico o carbonato cálcico o compuestos amínicos como piridina, trietilamina, dimetilnilina, picolina o similares.

25 La reacción de condensación de los compuestos (II) con los compuestos (III) cuyo grupo amino ha sido activado con tricloruro de fósforo, clorofosfito de etilo, clorofosfito de metilo o similares puede ser llevada a cabo convenientemente a temperaturas comprendidas entre la ambiente y la de reflujo del disolvente utilizado, durante 0,5 a 3 horas. El disolvente habitualmente empleado en esta invención puede ser un disolvente neutro, como benceno, tolueno, xileno, dioxo

1 no o tetrahidrofurano o un disolvente básico como piridina,
trietilamina, dimetilamina, dimetilanilina o picolina.
Cuando se utiliza un disolvente neutro, es preferible agre
5 gar un compuesto amínico como piridina, trietilamina, dime-
tilanilina, picolina o similares.

En otra realización de la invención, los compuestos
(II) pueden reaccionar con los compuestos (III) en un disol
vente inerte, en presencia de un acelerante de la formación
de amidas, por ejemplo un compuesto imídico como N,N'-dici-
10 clohexilcarbodiimida, N-ciclohexil-N'-morfolinoetilcarbodi-
imida, N,N'-dietilcarbodiimida o similares; un compuesto
imínico como difenilceten-N-ciclohexilimina, pentameten-
ceten-N-ciclohexilimina o similares o un fosfato o fosfito
como fosfito de trietilo, polifosfato de etilo, polifosfato
15 de isopropilo o similares, a las temperaturas comprendidas
entre la ambiente y la de reflujo del disolvente utilizado,
durante 1 a 5 horas. El disolvente inerte que puede utili-
zarse en esta reacción puede ser, por ejemplo, benceno, to-
lueno, tetrahidrofurano, cloroformo, dioxano, acetonitrilo
20 y dimetilformamida.

La reacción definida en el Método (2) puede ser lle-
vada a cabo haciendo reaccionar el compuesto (IV) con un
agente nitrante, en un disolvente inerte como cloroformo,
diclorometano o similares, a una temperatura comprendida
25 entre -5°C y la temperatura ambiente, durante 1 a 3 horas.
El agente nitrante que puede utilizarse generalmente en esta
reacción es el ácido nítrico fumante, cloruro de nitrilo o
similares.

Los compuestos (I) preparados por el Método (1) o
30 por el Método (2) pueden convertirse en sus sales de adición
de ácidos orgánicos o inorgánicos, como hidrocloruros, nitra

1 tos, oxalatos, p-toluensulfonatos, maleatos o similares.

5 Los derivados de piridina (I) de esta invención pueden ser formulados por técnicas convencionales en composiciones farmacéuticas en forma de tabletas, gránulos, polvos, cápsulas, suspensiones, inyecciones parenterales, supositorios o similares. Para la preparación de tabletas, polvos, gránulos o cápsulas llenadas con polvos o gránulos, los compuestos de esta invención pueden mezclarse con uno o más vehículos farmacéuticos como lactosa, almidón, manitol, caolín, celulosa cristalina, talco, carbonato cálcico, estearato magnésico o similares. Para la preparación de cápsulas blandas llenadas con un preparado líquido, los compuestos de esta invención pueden disolverse en un aceite. Estos compuestos también pueden suspenderse en una solución acuosa de goma arábiga o de sacarosa, ajustando el pH. Por otra parte, los compuestos pueden mezclarse con manitol para hacerlos adecuados para la inyección parenteral.

10

15

20 Los derivados de piridina de esta invención pueden encontrarse en cualquier forma de la composición farmacéutica en cantidad suficiente para presentar las acciones que permiten el tratamiento o la prevención de las enfermedades circulatorias pero que no presentan ningún efecto adverso cuando son administrados. Una dosis unitaria como una tableta o una cápsula puede contener habitualmente de 5 a 20 mg del compuesto activo, cuando la composición se administra por vía oral. Cuando la composición se administra por vía parenteral, la dosis unitaria, por ejemplo un vial, puede contener habitualmente alrededor de 1 a 10 mg del compuesto.

25

30 Se sobreentiende que las dosis reales cambian naturalmente con las condiciones del paciente individual en trata-

1 miento y, por lo tanto, deben ser específicamente determina
das en uso. Sin embargo, una dosis diaria segura y conve-
niente para adultos contiene habitualmente de 10 a 100 mg de
5 compuesto activo, preferiblemente de 10 a 60 mg para la ad-
ministración por vía oral y de 1 a 100 mg y preferiblemente
de 1 a 50 mg en el caso de la inyección parenteral.

La Figura 1 es un gráfico que muestra el porcentaje
de aumento del flujo sanguíneo coronario cuando se adminis-
tran intravenosamente, de acuerdo con el Experimento 1, el
10 compuesto preparado de acuerdo con el Ejemplo 1 o nitrogli-
cerina.

La Figura 2 es un gráfico que muestra la duración del
aumento del flujo sanguíneo coronario cuando se administra
intravenosamente, de acuerdo con el Experimento 1, el com-
15 puesto del Ejemplo 1 o nitroglicerina.

La Figura 3 es un gráfico que muestra la variación
de la tensión del ventrículo izquierdo cuando se administra
intravenosamente, de acuerdo con el Experimento 1, el com-
puesto del Ejemplo 1 o nitroglicerina.

La Figura 4 es un gráfico que muestra la variación
del ritmo cardiaco cuando se administra intravenosamente,
20 de acuerdo con el Experimento 1, el compuesto del Ejemplo 1
o nitroglicerina.

Las Figuras 5, 6 y 7 son gráficos que muestran la
variación de los electrocardiogramas cuando se administra
25 por vía intravenosa el compuesto del Ejemplo 1.

La Figura 8 es un gráfico que muestra la variación
de la presión sanguínea sistémica cuando se administra in-
travenosamente, de acuerdo con el Experimento 1, el compues-
to del Ejemplo 1 o nitroglicerina.

30 Las Figuras 9 y 10 son gráficos que muestran la va-

1
riación de la presión sanguínea sistémica cuando se administra intravenosamente, de acuerdo con el Experimento 1, el compuesto del Ejemplo 1.

5
Las Figuras 11 y 12 son gráficos que muestran la variación del flujo sanguíneo aórtico cuando se administra intravenosamente el compuesto del Ejemplo 1.

10
La Figura 13 es un gráfico que muestra el efecto del compuesto del Ejemplo 1 sobre la coagulación de plaquetas causada por el adenosin-difosfato de acuerdo con el Experimento 7.

La Figura 14 es un gráfico que muestra el efecto del compuesto sobre la coagulación de plaquetas causada por el colágeno de acuerdo con el Experimento 7.

EXPERIMENTO 1

15
Se determinó la toxicidad aguda (DL_{50}) del compuesto del Ejemplo 2 mediante el uso de ratas machos y hembras de la variedad SD (de 4 semanas de edad), que recibieron el compuesto por vía oral o intravenosa. Los valores de DL_{50} frente a ratas machos y hembras oscilaron entre 1200 y 20
1300 mg/kg en la administración oral y entre 800 y 1000 mg/kg en la administración intravenosa.

EXPERIMENTO 2

25
Unos perros cruzados adultos, que habían sido anestesiados por administración intravenosa de 30-40 mg/kg de pentobarbital sódico, se sometieron a toracotomía bajo ventilación oxigenada mediante el uso del respirador de Bird y después se midieron diversos fenómenos físicos de la siguiente forma.

30
1) Flujo sanguíneo coronario (FSC)

Se conectó una sonda electromagnética para la medida

1 del flujo a una rama circunfleja o un origen de una rama
descendente anterior de la arteria coronaria izquierda.

2) Presión de perfusión coronaria (PPC)

5 El catéter fino conectado a un transductor de presión
se insertó en el lado distal de la sonda en la rama circunfleja
de la arteria coronaria izquierda.

3) Flujo sanguíneo aórtico (FSA)

Se conectó al origen de la aorta una sonda electromagnética
para la medida del flujo.

10 4) Tensión del ventrículo izquierdo (TVI)

Se cosió un aparato medidor de la tensión sobre la
pared anterior del ventrículo izquierdo.

5) Presión sanguínea sistémica (PSS)

15 En la arteria femoral derecha se insertó un catéter
conectado a un transductor de presión.

6) Ritmo cardiaco (RC)

El ritmo cardiaco se midió mediante un cardiotaquímetro
utilizando una presión de impulsos como impulso disparador.

20 7) Electrocardiograma (ECG)

Se registro un electrocardiograma de acuerdo con un
conductor unipolar en la superficie cardiaca, utilizando diferentes
posiciones del electrodo en una porción de la pared anterior
del ventrículo izquierdo.

25 Además de los ensayos 1 a 7 anteriores, algunos de
los animales experimentales fueron sometidos a la medida del
flujo sanguíneo renal (FSR) y del flujo sanguíneo femoral
(FSF) conectando una sonda electromagnética para la medida
del flujo a la arteria renal izquierda y a la arteria femoral
izquierda.

30

1 El compuesto de ensayo del Ejemplo 1 se disolvió en
solución salina fisiológica o en agua destilada y se admi-
nistró por vía intravenosa, oral o sublingual. De la misma
5 forma se administró nitroglicerina como droga de control
activa para establecer comparaciones con el compuesto de
ensayo.

Resultados

(I) Administración intravenosa

10 a) Variación del flujo sanguíneo coronario.

El flujo coronario diastólico comenzó a aumentar 10-
20 segundos después de la administración intravenosa del com-
puesto de ensayo, con una dosis de 10 µg/kg o más. El flujo
coronario sistólico fué aumentado con una dosis de 250 µg/kg
15 o más, acompañado de una reducción transitoria inmediatamen-
te después de la administración. El flujo coronario medio
presentó un aumento persistente después de la administración
del compuesto de ensayo.

20 El creciente grado de flujo coronario está mostrado
en las Figuras 1 y 2 en función del porcentaje máximo de va-
riación y de la duración frente a los valores antes de la
administración.

25 La administración del compuesto de esta invención in-
cluso a una dosis de 10 µg/kg i.v. produjo un notable aumento
del flujo coronario y a una dosis de 500 µg/kg i.v. produjo
un aumento tan notable que parecía hiperemia reactiva. En
este último caso, la duración del aumento del flujo coronario
llegó a casi 3 horas. El efecto del compuesto de esta inven-
ción fué superior al de la nitroglicerina, especialmente en
30 la duración de la acción.

1 b) Variación de la tensión del ventrículo izquierdo

8 Como muestra la Figura 3, la tensión del ventrículo izquierdo experimentó una ligera reducción después de la administración intravenosa del compuesto del Ejemplo 1 a una dosis de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o más. La reducción era casi equivalente a la de la nitroglicerina en los límites de dosis ensayados. Sin embargo, el porcentaje máximo de reducción fué del 33 % o menos incluso a una dosis de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.

10 c) Variación del ritmo cardiaco

15 Como muestra la Figura 4, el ritmo cardiaco casi no presentó ninguna variación cuando se administró el compuesto de esta invención a una dosis de hasta 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. mientras que, a una dosis de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. o más, presentó un ligero descenso proporcional a la dosis hasta llegar al 17 % a una dosis de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. Por el contrario, la administración de nitroglicerina a una dosis superior a 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. aumentó el ritmo cardiaco.

20 d) Variaciones del electrocardiograma

25 Como muestran las Figuras 5 y 7, los intervalos PP y QTc fueron prolongados en función de la dosis mediante la administración intravenosa del compuesto del Ejemplo 1 con una dosis superior a 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mientras que el intervalo PQ casi no experimentó ninguna variación por administración de dosis hasta de 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.

30 e) Variaciones de la presión sanguínea sistémica

 Como muestran las Figuras 8, 9 y 10, la presión sanguínea sistémica presentó un notable descenso, en función de la dosis, por administración intravenosa del compuesto de ensayo a una dosis superior a 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. El efecto del compuesto sobre la presión sanguínea no fué tan intenso como el de

1 la nitroglicerina pero la duración fué mayor que la produci-
da con nitroglicerina.

f) Variación del flujo sanguíneo aórtico

5 Como muestran las Figuras 11 y 12, el flujo sangui-
neo aórtico presentó un ligero aumento en función de la
dosis por administración intravenosa del compuesto del Ejem-
plo 1 a una dosis de 10 µg/kg o más. El porcentaje de aumen-
to a una dosis de 500 µg/kg i.v. llegó a un máximo del 40 %
pero la duración no fué tan importante como el grado de
10 aumento en el flujo coronario.

g) Variación del flujo renal o femoral

15 Los flujos renal y femoral aumentaron a pesar de un
descenso de la presión sanguínea sistémica por administra-
ción intravenosa del compuesto del Ejemplo 1 a una dosis de
100 a 250 µg/kg. Sin embargo, el aumento de los flujos re-
nal y femoral fué menor que el del flujo coronario tanto
en grado como en duración.

20 De los resultados aquí indicados, se deduce que los
compuestos de esta invención ejercen un efecto de aumento
sobre el flujo coronario muy superior al de la nitroglice-
rina y, además, producen una disminución de la presión san-
guínea, una reducción del ritmo cardiaco y una reducción de
la tensión cardiaca, que no resultaron excesivas incluso a
dosis elevadas.

25 Además, el hecho de que los compuestos de esta inven-
ción no perturben la conducción de la excitación en el co-
razón, como se demuestra en el intervalo PQ del electrocar-
diograma no prolongado, indica que puede ser muy útil como
droga para la isquemia cardiaca.

30 El compuesto puede ser utilizado como droga anti

1 hipertensora o como vasodilatador periférico debido a
que ejerce una acción antihipertensora suave y de larga du-
ración y una acción dilatadora de los vasos femoral y re-
5 nal así como un efecto conveniente sobre la isquemia car-
diaca.

(II) Administración oral y sublingual

10 El compuesto preparado según el Ejemplo 2 fué admi-
nistrado sublingualmente a perros en forma de tableta que
contenía 1-10 mg del compuesto. Unos 2 minutos después de la
administración, aumentó visiblemente el flujo coronario. El
compuesto a una dosis de 10 mg casi no produjo ningún cambio
en la presión sanguínea sistémica, en la tensión cardiaca ni
en el flujo aórtico. Por el contrario, la administración sub-
15 lingual de una tableta conteniendo el hidrocloreuro del com-
puesto activo no produjo ningún aumento sustancial del flujo
coronario. Cuando el compuesto preparado de acuerdo con los
Ejemplos 1 o 2 en su forma libre o en forma de hidrocloreuro
se administró por vía intraduodenal a una dosis de 50 µg/kg
o más, se observó un aumento visible y de larga duración del
20 flujo coronario.

Según demuestran los resultados de los ensayos realiza-
dos, los compuestos de esta invención pueden ser utilizados
en forma de diversas preparaciones, por ejemplo para inyec-
ción parenteral o en forma de cápsulas, tabletas, gránulos
o polvos para administración oral o en una forma sublingual.
25 Por el contrario, la nitroglicerina no es absorbida a tra-
vés de la pared intestinal y, por lo tanto, solamente puede
utilizarse la administración sublingual.

EXPERIMENTO 3

30 Unos perros mestizos adultos que habían sido anestesia

1 dos por administración intravenosa de 30-40 mg/kg de pento-
barbital sódico fueron sometidos a toracotomía bajo ventila-
ción oxigenada mediante el uso del respirador de Bird. Se
5 insertó un catéter hacia una dirección proximal en una rama
de un origen de la arteria coronaria izquierda y a través del
catéter se inyectó un medio de contraste tal como Conlaxín
H[®] o Angioconrei[®]. La variación morfológica de la arteria
coronaria izquierda fué filmada utilizando una película de
10 35 mm, antes y después de la inyección del compuesto. Del
análisis se dedujo que la arteria coronaria había sido nota-
blemente dilatada por administración intravenosa del compues-
to de esta invención a una dosis de 100 µg/kg o más.

EXPERIMENTO 4

15 Se realizó la misma preparación que en el Experimento
2, utilizando perros mestizos adultos anestesiados por inyec-
ción intravenosa de pentobarbital sódico. La rama descenden-
te anterior izquierda o rama circunfleja de la arteria coro-
naria fué estricturada u ocluida mecánicamente en el lado
20 distal de la porción que conectaba la sonda electromagnética
para inducir experimentalmente el fenómeno isquémico cardia-
co y después se observó el efecto del compuesto del Ejemplo
1 sobre dicho fenómeno.

25 Bajo una estrictura incompleta, el flujo coronario
aumentó ligeramente cuando se administró por vía intraveno-
sa el compuesto del Ejemplo 1 a una dosis de 100 µg/kg o me-
nos, mientras que disminuyó ligeramente cuando se administró
a una dosis de más de 250 µg/kg. Después de la administra-
ción del compuesto de esta invención, mejoró aparentemente
30 la elevación ST del electrocardiograma en la porción isquémica
cardíaca y, al mismo tiempo, también se observó recupera-

1
5
8
ción de la tensión ventricular en una parte isquémica. Bajo
oclusión completa, el compuesto no mejoró la elevación ST
ni la tensión ventricular en el punto central de la porción
isquémica pero se observó una mejora en los puntos circun-
dantes de la porción isquémica.

10
Análogamente, cuando se administró por vía sublingual
una tableta conteniendo 10 mg de la forma libre del compues-
to preparado en el Ejemplo 2, aumentó el flujo coronario y
mejoraron la elevación ST en el electrocardiograma y la re-
ducción de la tensión ventricular.

EXPERIMENTO 5

15
20
(I) Un músculo papilar aislado de un cobaya se introdu-
jo en un baño de órganos lleno de solución de Tyrode oxigena-
da (Ca: 1,8 mM, K: 2,7 mM) a 30°C. Un extremo del músculo se
fijó al baño para órganos y el otro extremo se conectó a un
medidor de la tensión mediante un hilo. Se observó el efecto
del compuesto del Ejemplo 1 sobre la fuerza de contracción
del músculo comunicando un estímulo eléctrico (20V, 5 milise-
gundos, 1 Hz) al músculo con un electrodo de Ag-AgCl. También
se estudió la acción antagónica del compuesto contra el ion
calcio o el isoproterenol.

25
30
De los resultados del ensayo se dedujo que la contrac-
ción del músculo papilar inducida por el estímulo eléctrico
era inhibida por la aplicación del compuesto de esta inven-
ción a una concentración superior a 1 µg/ml y que el ion cal-
cio tenía un efecto antagónico contra dicha acción inhibidora.
Por otra parte, cuando se aplicó isoproterenol a una concentra-
ción de 0,08 µg/ml, el músculo papilar presentó una excitación
excesiva produciendo dos o más contracciones irregulares por
estímulo eléctrico individual. Bajo este estado, la adición

1 del compuesto de esta invención a la solución a una concentración superior a 2 $\mu\text{g/ml}$ inhibió la excitación excesiva.

3 (II) Una tira espiral aislada de la arteria coronaria de un perro se introdujo en el baño para órganos lleno de solución de Lock exenta de Ca^{++} . Un extremo de la tira se fijó al baño para órganos y al extremo opuesto se conectó un medidor de la tensión. Se estudió el efecto del compuesto del Ejemplo 1 sobre la contracción de la tira inducida por la polarización de la solución por adición de 43 mM de K^+ y 1 mM de Ca^{++} .

10 Los resultados del ensayo demostraron que la contracción inducida por la despolarización por K^+ era inhibida por el compuesto de esta invención y esta acción inhibidora disminuía por adición de Ca^{++} .

15 (III) Se estudió el efecto del Ca^{++} sobre el aumento del flujo coronario utilizando el perro anestesiado con pentobarbital sódico de acuerdo con el procedimiento del Experimento 2-(I). El aumento del flujo coronario inducido por administración del compuesto de esta invención era inhibido por una dosis mayor de Ca^{++} .

20 (IV) La tenia coli de un cobaya se suspendió en el baño para órganos lleno de solución de Tyrode y se estudió el efecto del compuesto del Ejemplo 1 sobre la contracción espontánea y sobre la contracción inducida por despolarización por K^+ .

25 Los resultados del ensayo demuestran que la contracción espontánea y la contracción inducida por despolarización por K^+ son inhibidas por aplicación del compuesto a una concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$ y esta acción inhibidora es disminuida por adición de Ca^{++} .

30

1 El análisis de los resultados de los ensayos indica
que el compuesto de esta invención ejerce una acción anta-
gonista para el Ca^{++} , de forma que la acción inhibidora de
5 la contracción cardíaca, la acción dilatadora del músculo
liso de la arteria coronaria del perro y la acción inhibi-
dora de la contracción de la tenia coli del cobaya, induci-
das por aplicación del compuesto, son antagonizadas por
adición de Ca^{++} . Además, también se encontró que el compues-
to de esta invención ejercía una acción antiarrítmica porque
10 inhibía la excitación excesiva del músculo papilar induci-
da por administración de isoproterenol.

EXPERIMENTO 6

15 El flujo sanguíneo se hizo insuficiente cargando ex-
perimentalmente la arteria coronaria de un perro, por ejem-
plo estricturando la arteria coronaria durante un cierto
periodo de tiempo y se dejó que la arteria se mantuviera en
estas condiciones. De acuerdo con este tratamiento, la pre-
sión sanguínea periférica y el flujo sanguíneo periférico
repetían unas fluctuaciones periódicas espontáneas dentro
20 de un periodo del orden de minutos, acompañadas de elevación
ST en el electrocardiograma. Este fenómeno era muy similar
a las variaciones de una angina de pecho en un caso clínico.
Se ha demostrado que la fluctuación periférica es causada
por el espasmo periódico en la arteria coronaria estrictu-
rada. Se estudió el efecto del compuesto sobre este modelo
25 de la angina de pecho variable.

Los resultados del ensayo indican que las fluctuacio-
nes periféricas de la presión sanguínea coronaria y del flu-
jo coronario son inhibidas por administración intravenosa
30 del compuesto del Ejemplo 1 a una dosis de 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o más.

1 Es decir, la fluctuación periódica del flujo sanguíneo disminuye aparentemente y solamente quedan fluctuaciones finas. La duración efectiva de la acción inhibidora osciló entre 25 y 40 minutos.

8 Como se ha dicho antes, se cree que el compuesto de esta invención es eficaz en el tratamiento de la angina de pecho variable.

EXPERIMENTO 7

10 Siguiendo el procedimiento explicado más abajo, se estudió el compuesto del Ejemplo 1 para determinar si ejercía o no una acción anticoagulante sobre las plaquetas, es decir, una acción antiembólica.

1. Preparación de la solución de ensayo

1-1 Ajuste del plasma rico en plaquetas (solución PRP)

15 La sangre de un conejo conteniendo 38 % de citrato sódico (sangre/solución acuosa de citrato sódico = 9:1) se centrifugó a 1000 rpm durante 10 minutos y se utilizó el líquido sobrenadante como solución PRP.

20 1-2 Ajuste de una solución de adenosin-difosfato (solución ADP)

Se disolvió adenosin-difosfato (Sigma Chemical Co., Ltd.) en una solución salina fisiológica a una concentración de 100 µg/ml.

25 1-3 Ajuste de la suspensión de colágeno

30 Se suspendieron 50 mg de colágeno obtenido de tendones de buey (Sigma Chemical Co., Ltd.) en 5 ml de solución salina fisiológica y se homogeneizó mediante un homogeneizador de vidrio durante 5 minutos. A continuación se centrifugó a 500 rpm durante 5 minutos y el líquido sobrenadante se utilizó como suspensión de colágeno.

1-4 Se disolvió el compuesto del Ejemplo 1 en la solución salina fisiológica para obtener la solución de ensayo.

2. Método de medida

La medida se realizó utilizando el aparato Aggregometer (Evans Electroselenium Ltd., Modelo 169).

En dos cubetas se introdujeron respectivamente 0,5 ml de solución PRP y 0,025 ml de la solución de ensayo o de una solución salina fisiológica como control y después se sometieron a incubación a 37°C durante 2 minutos. A continuación, después de agregar a cada cubeta 0,025 ml de solución ADP o 0,025 ml de la suspensión de colágeno, se midió el efecto del compuesto sobre la agregación de las plaquetas inducida por el ADP o el colágeno.

Como muestran las Figuras 13 y 14, la velocidad inicial de agregación inducida por el ADP en el compuesto de ensayo era iguala la del control pero el compuesto de ensayo aceleraba la disociación de las plaquetas agregadas. Por otra parte, el compuesto de ensayo retrasaba la iniciación de la agregación inducida por colágeno y llegaba a un grado máximo de agregación inferior al del control. Estos resultados confirmaron el efecto inhibitor del compuesto sobre la agregación de las plaquetas, de manera que se encontró que el compuesto de esta invención también era útil como anticoagulante.

EXPERIMENTO 8

Siguiendo el método descrito en el Experimento 2, epígrafe 5, se midió la variación de la presión sanguínea sistémica cuando se administraban los compuestos de ensayo por vía intravenosa. Los resultados obtenidos se encuentran en

1 la siguiente tabla.

TABLA

5

<u>Compuesto de ensayo</u>	<u>Dosis (µg/kg)</u>	<u>Porcentaje de va riación de la P_{SS} (%)</u>	<u>Duración (minutos)</u>
Compuesto del Ej. 1	50	16	22
Compuesto del Ej. 8	50	20	17
Nitroglicerina	50	45	8

EJEMPLO 1

10

15

20

25

30

A una mezcla de 5 g de hidrógeno-carbonato sódico, 15 ml de agua, 1,69 g del éster nítrico del nitrato de monoetanolamina y 20 ml de cloroformo se añaden lentamente 2,5 g de hidrocioruro de cloruro de nicotinilo a lo largo de 10 a 30 minutos, agitando a 0-5°C. Se continúa agitando durante 30 minutos más y después se separa la capa de cloroformo. La capa acuosa residual se extrae con cloroformo y el extracto se combina con la capa de cloroformo separada. Se lava la capa orgánica con una solución acuosa de carbonato potásico, se seca sobre sulfato sódico anhidro y se evapora a presión reducida hasta sequedad. El residuo se disuelve en éster-isopropanol (1:1) y después se hace pasar cloruro de hidrógeno a través de la solución enfriada para dar 2,35 g del éster nítrico del hidrocioruro de N-(2-hidroxietil)nicotinamida. Por recristalización en etanol se obtienen unos cristales aciculares incoloros con un punto de fusión de 132°C.

Análisis para $C_8H_{10}N_3O_4Cl$:

Calculado : C, 38,80; H, 4,07; N, 16,96 %

Encontrado: C, 38,89; H, 4,02; N, 16,72 %

IR(cm^{-1}): NH, 3255; C=O, 1669; ONO_2 , 1640.

EJEMPLO 2

1 A una solución de 1,69 g del éster nítrico de la mono-
etanolamina y 30 ml de piridina se añaden lentamente
2,5 g de hidrocioruro de cloruro de nicotínico a lo largo
5 de 10 a 30 minutos, agitando a 5°C. Después de agitar duran-
te 30 minutos más, se evapora la mezcla de reacción a sequed-
dad. El residuo se disuelve en cloroformo y la solución se
lava con una solución acuosa de hidrógeno-carbonato sódico.
Se separa la capa orgánica, se seca sobre sulfato sódico
10 anhidro y se evapora a presión reducida hasta sequedad. El
residuo se cromatografía en gel de sílice (Wakogel C-200,
Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japón) y se eluye con
benceno-etanol (5:1). Se evapora el eluyente hasta formar
una masa semisólida que se cristaliza en éter dietílico pa-
15 ra dar 1,97 g del éster nítrico de la N-(2-hidroxietil)nicotina-
midamida.

Recristalizando los cristales en éter dietílico-eta-
nol se obtienen unas agujas incoloras con un punto de fu-
sión de 92-93°C.

EJEMPLO 3

Una solución de 10 g del éster nítrico del hidroclo-
ruro de N-(2-hidroxietil)nicotinamida en agua se neutraliza
con una solución acuosa de hidrógeno-carbonato sódico. La
solución se extrae con cloroformo y el extracto se seca so-
25 bre sulfato sódico anhidro y se evapora a sequedad a presión
reducida. El residuo se cristaliza en éter dietílico para
dar 7 g del éster nítrico de N-(2-hidroxietil)nicotinamida.
Por recristalización en isopropanol-éter dietílico se obtie-
nen agujas incoloras con un punto de fusión de 93°C.

30 IR(cm^{-1}): NH, 3250; ONO_2 , 1630.

EJEMPLO 4

A una mezcla de 1,69 g del éster nítrico del nitrato de monoetanolamina en 5 ml de agua, 3,8 ml de solución de carbonato potásico al 35 % y 17 ml de tetrahidrofurano se añaden alternativamente 3 g de hidrocioruro de cloruro de isonicotínilo y 11,2 ml de una solución acuosa de carbonato potásico al 35 % a lo largo de 30 minutos, agitando a 0-5°C. La mezcla de reacción se agita durante 15 minutos más y después se separa la capa orgánica. La capa acuosa se extrae con tetrahidrofurano y el extracto se combina con la capa orgánica anteriormente separada. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato sódico anhidro y se filtran. Por evaporación del disolvente a vacío y cristalización del residuo se obtiene el éster nítrico de la N-(2-hidroxietil)isonicotinamida.

El producto se disuelve en éter dietílico y por adición gota a gota de una mezcla de éter dietílico y ácido nítrico fumante, con refrigeración, se obtienen 1,5 g del éster nítrico del nitrato de N-(2-hidroxietil)isonicotinamida. Por recristalización en isopropanol se obtienen cristales con un punto de fusión de 105°C (descomposición).

Análisis para $C_8H_{10}N_4O_7$:

Calculado : C, 35,04; H, 3,68; N, 20,43 %

Encontrado: C, 35,00; H, 3,59; N, 20,38 %

Ir(cm^{-1}): NH, 3280; C=O, 1671; ONO₂, 1625.

EJEMPLO 5

A una mezcla de 1,83 g del éster nítrico del nitrato de isopropanolamina en 5 ml de agua, 3,8 ml de solución acuosa de carbonato potásico al 35 % y 17 ml de tetrahidrofurano se añaden alternativamente 3 g de hidrocioruro de cloruro de isonicotínilo y 11,2 ml de una solución acuosa de carbonato potásico al 35 % a lo largo de 30 minutos, agitando a 0-5°C. La mezcla de reacción se agita durante 15 minutos más y después se separa la capa orgánica. La capa acuosa se extrae con tetrahidrofurano y el extracto se combina con la capa orgánica anteriormente separada. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre sulfato sódico anhidro y se filtran. Por evaporación del disolvente a vacío y cristalización del residuo se obtiene el éster nítrico de la N-(2-hidroxietil)isonicotinamida.

1 ruro de nicotinilo y 11,2 ml de solución de carbonato potásico al 35 % a lo largo de 30 minutos, agitando a 0-5°C. La mezcla de reacción se agita durante 15 minutos más y se separa la capa orgánica. La capa acuosa se extrae con 5 tetrahidrofurano y el extracto se combina con la capa orgánica anteriormente separada. Los extractos combinados se secan sobre sulfato sódico anhidro y se filtran. Por evaporación del disolvente a presión reducida y cristalización del residuo se obtiene el éster nítrico de la N-(2-hidroxipropil) 10 nicotinamida.

El producto se disuelve en acetona y después se hace borbotear a través de la solución cloruro de hidrógeno para dar 1,5 g de hidrocioruro del éster nítrico de la N-(2-hidroxipropil)nicotinamida en forma de cristales incoloros, 18 p.f.161°C (descomposición).

Análisis para $C_9H_{12}N_3O_4Cl$:

Calculado : C, 41,31; H, 4,62; N, 16,06 %

Encontrado: C, 41,38; H, 4,60; N, 16,11 %

IR(cm^{-1}): NH, 3230; C=O, 1672; ONO_2 , 1620.

EJEMPLO 6

Por un procedimiento similar al del Ejemplo 4, se hace reaccionar hidrocioruro de cloruro de nicotinilo con el éster nítrico del nitrato de propanolamina para obtener el hidrocioruro del éster nítrico de la N-(3-hidroxipropil)nicotinamida. Rendimiento: 75 %; p.f. 127°C (descomposición).

Análisis para $C_9H_{12}N_3O_4Cl$:

Calculado : C, 41,31; H, 4,62; N, 16,06 %

Encontrado: C, 41,40; H, 4,53; N, 16,15 %

IR (cm^{-1}): NH, 3235; C=O, 1672; ONO_2 , 1617;

EJEMPLO 7

Por un procedimiento similar al del Ejemplo 4, se hace reaccionar el hidrocioruro de cloruro de isonicotinilo con el éster nítrico del nitrato de propanolamina para obtener el hidrocioruro del éster nítrico de la N-(3-hidroxipropil)isonicotinamida. Rendimiento: 72 %, p.f. 125°C. (descomposición).

Análisis para $C_9H_{12}N_3O_4Cl$:

Calculado : C, 41,31; H, 4,62; N, 16,06 %

Encontrado: C, 41,40; H, 4,58; N, 16,01 %

IR (cm^{-1}): NH, 3230; C=O, 1672; ONO_2 , 1615

EJEMPLO 8

Por un procedimiento similar al del Ejemplo 4, se hace reaccionar el hidrocioruro de cloruro de picolinilo con el éster nítrico de la sal de ácido nítrico de monoetanolamina para obtener el éster nítrico de la N-(2-hidroxietil)picolinamida. Rendimiento: 78 %, p.f. 55-56°C.

Análisis para $C_8H_9N_3O_4$:

Calculado : C, 45,50; H, 4,29; N, 19,89 %

Encontrado: C, 45,25; H, 4,10; N, 19,17 %.

IR (cm^{-1}): NH, 3362; C=O, 1665; ONO_2 , 1620.

EJEMPLO 9

Por un procedimiento similar al del Ejemplo 4, se hace reaccionar el hidrocioruro de cloruro nicotínico con 2,3-hidroxipropilamina para obtener el éster dinítrico de la N-(2,3-dihidroxipropil)nicotinamida en forma de aceite amarillo pálido.

EJEMPLO 10

Se añaden grandualmente 1,145 g de nitrato de N-(2-hidroxietil)nicotinamida a 3 ml de ácido nítrico fumante que

1 ha sido enfriado a una temperatura de -10 a -5°C, con agita-
ción. Después de agitar durante una hora más a 0-5°C, se
añade éter dietílico a la solución para precipitar 1,15 g
5 del éster nítrico de la N-(2-hidroxietil)nicotinamida en
forma de cristales incoloros. Los cristales se disuelven en
una solución acuosa de carbonato sódico y a la solución se
agrega acetato de etilo. Se separa la capa de acetato de etilo,
10 se seca sobre sulfato sódico y se evapora a presión reducida.
El residuo se cristaliza en éter dietílico para dar
el éster nítrico de la N-(2-hidroxietil)nicotinamida. Por re-
cristalización en éter dietílico se obtienen cristales inco-
loros con un punto de fusión de 90-92°C.

Análisis para $C_8H_9N_3O_4$:

Calculado : C, 45,50; H, 4,29; N, 19,89 %

15 Encontrado: C, 45,37; H, 4,09; N, 19,71 %

EJEMPLO 11

Por un procedimiento similar al del Ejemplo 10, se
hace reaccionar el nitrato de N-(2-hidroxietil)isonicotinami-
20 da con ácido nítrico fumante para obtener el éster nítrico
del nitrato de N-(2-hidroxietil)isonicotinamida. Rendimien-
to: 76 %, p.f. 105°C (descomposición).

Análisis para $C_8H_{10}N_4O_7$:

Calculado : C, 35,04; H, 3,68; N, 20,43 %

25 Encontrado: C, 35,11; H, 3,57; N, 20,34 %

EJEMPLO 12

Preparados farmacéuticos

a) Tableta sublingual

Compuesto preparado según el Ejemplo 2	5 mg
Lactosa	19,7 g
Manitol	25 mg

30

1	Estearato magnésico	0,3 mg
	Total	50 mg/tableta

5 Los ingredientes se mezclan uniformemente en las proporciones descritas y la mezcla se configura en tabletas de 5 mm de diámetro y 50 mg de peso cada una.

b) Tableta para uso interno

10	Compuesto preparado según el Ej. 1	10 mg
	Lactosa	44,5 mg
	Almidón de maíz	20 mg
	Celulosa cristalina	25 mg
	Estearato magnésico	0,5 mg
	Total	100 mg/tableta.

18 Los ingredientes se mezclan uniformemente en las proporciones antes descritas y la mezcla se configura en tabletas, de 7 mm de diámetro y 100 mg de peso cada una.

c) Cápsulas duras

20	Compuesto preparado según el Ej. 2	20 mg
	Lactosa	176 mg
	Estearato magnésico	4 mg
	Total	200 mg/cápsula

25 Los ingredientes se mezclan uniformemente en las proporciones descritas y unas cápsulas duras del n° 3 se llenan con 200 mg cada una de la mezcla mediante una máquina envasadora para formar cápsulas con un peso de 250 mg cada una.

d) Gránulos

30	Compuesto preparado según el Ej. 2	10 mg
	Lactosa	710 mg
	Pasta de almidón de maíz	280 mg
	Total	1000 mg/unidad.

1 Los ingredientes se amasan uniformemente y después se granulan para formar gránulos de 1 mm de diámetro aproximadamente.

5 e) Inyección parenteral

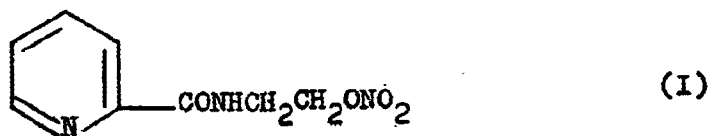
Compuesto preparado según el Ej. 2	5 mg
Manitol	50 mg
Total	55 mg/vial

10 Los ingredientes se disuelven en 1 ml de agua destilada y la solución se esteriliza y filtra. La solución se introduce en un vial y se liofiliza y después el vial se cierra herméticamente para formar una inyección parenteral. La mezcla liofilizada se disuelve en 1 ml de agua destilada cuando se utiliza como inyección parenteral.

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

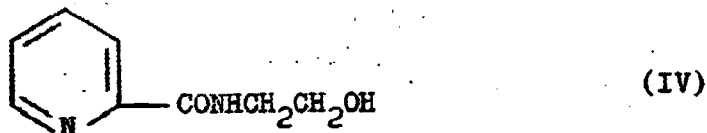
REIVINDICACIONES

20 1.- Un procedimiento para la preparación de nuevos derivados de piridina de fórmula:



25 cuyo procedimiento consiste en:

hacer reaccionar un compuesto representado por la fórmula:



1 con un agente nitrante, opcionalmente, en presencia de un disolvente.

5 2.- Un procedimiento según la reivindicación 1, donde la reacción se lleva a cabo utilizando ácido nítrico fumante o cloruro de nitrilo como agente nitrante.

3.- Un procedimiento según la reivindicación 1 donde la reacción se lleva a cabo en un disolvente inerte seleccionado entre cloroformo o diclorometano.

10 4.- Un procedimiento según la reivindicación 1, donde la reacción se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre -5°C y la temperatura ambiente, durante 1 a 3 horas.

15 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 NUEVOS DERIVADOS DE PIRIDINA ".

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria Descriptiva que consta de treinta páginas mecanografiadas, y dibujos que se acompañan.

Madrid, 31 de Marzo de 1978

BERNARDO UNGRIA

p.p.



25

30