



ESPAÑA

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

| | | |
|---------|-----------------------|---------|
| (19) ES | (11) NUMERO | (10) A1 |
| (21) | 476.648 | |
| (22) | FECHA DE PRESENTACION | |
| | 8-1-79 | |

PATENTE DE INVENCION

| (20) PRIORIDADES: | (22) FECHA | (23) PAIS |
|-------------------|-----------------|----------------|
| (21) NUMERO | | |
| 867.813 | 9 enero 1978 | Estados Unidos |
| 867.824 | 9 enero 1978 | " " |
| 872.836 | 27 enero 1978 | " " |
| 881.781 | 27 febrero 1978 | " " |
| 881.780 | 27 febrero 1978 | " " |
| 891.298 | 29 marzo 1978 | " " |

| | | |
|--------------------------|----------------------------------|--|
| (47) FECHA DE PUBLICIDAD | (51) CLASIFICACION INTERNACIONAL | (62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA |
| | C07C | |

(24) TITULO DE LA INVENCION

UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVAS AMIDAS.

(71) SOLICITANTE (ES)

SAINDOZ AG.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

CH-4002 BASLE - Suiza

(72) INVENTOR (ES)

Faizulla Gulamhusein Kathawala, de nacionalidad india y John G. Heider, de nacionalidad estadounidense, los cuales han cedido sus derechos a la entidad solicitante

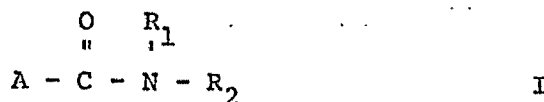
(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE

D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU

PERFECCIONAMIENTOS EN O RELACIONADOS CON COMPUESTOS
ORGANICOS

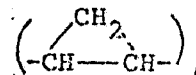
La presente invención proporciona compues-
tos de fórmula I,



en donde

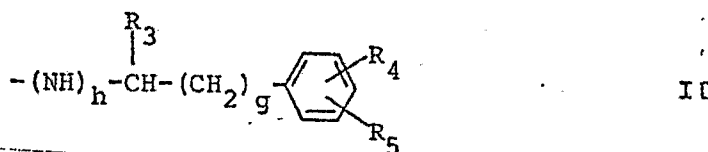
A es (i) el residuo de un ácido graso no saturado
de cadena larga (menos la función de ácido
carboxílico), cuyo residuo tiene de 7 a 23
átomos de carbono y posee de 1 a 4 grupos
no saturados etilénicamente, o

(ii) un residuo correspondiente en donde cada
grupo etilénico (-CH=CH-) está reemplazado
por un grupo ciclopropanilo



y o a) R₁ es hidrógeno, y

R₂ es un radical de fórmula II, III, IV ó V,



en donde

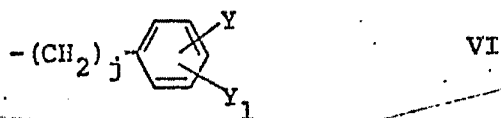
h es 0 ó 1,

g es 0 ó 1,

R_4 es hidrógeno, flúor, cloro, bromo o
alquilo C_{1-3} o alcoxi,

R_5 es hidrógeno, flúor, cloro o alquilo
 C_{1-3} o alcoxi, y

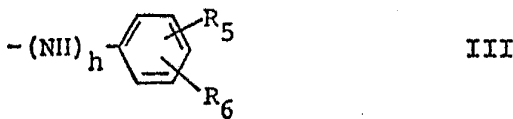
R_3 es hidrógeno, alquilo C_{1-8} o un radical
de fórmula VI,



en donde j es 0 ó 1,

Y es hidrógeno, flúor, cloro,
bromo o alquilo C_{1-3} o
alcoxi,

e Y_1 es hidrógeno, flúor, cloro
o alquilo C_{1-3} o alcoxi,

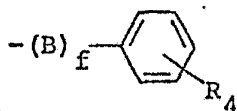


en donde

h y R_5 tienen los significados antes indicados,

y R_6 es hidrógeno, flúor, cloro, bromo, alquilo C_{1-3} o alcoxi, o un radical de fórmula VII,

5

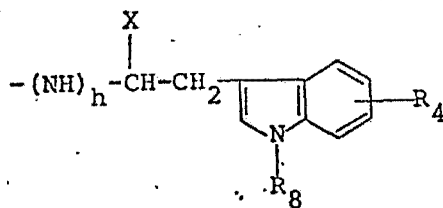


VII

en donde B es $-CH_2-$ ó $-O-$,

f es 0 ó 1, y

R_4 tiene el significado antes indicado,



IV

10

en donde

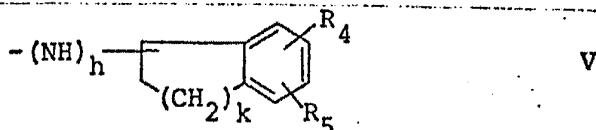
h y R_4 tienen los significados antes indicados,

X es hidrógeno o $-COOR_7$, en donde

R_7 es alquilo C_{1-8} o bencilo, y

15

R_8 es hidrógeno, alquilo C_{1-8} o bencilo,



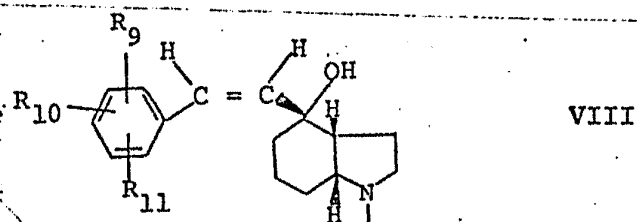
en donde

h , R_4 y R_5 tienen los significados antes
indicados, y

k es 1, 2, 3 ó 4,

5 con la condición de que cuando R_2 es un radical de
fórmula II ó III en donde h es 0, entonces A tiene
el significado indicado en la sección (ii), y de que
cuando R_2 es un radical de fórmula IV, entonces cuando
 h es 0, X es $-\text{COOR}_7$, y cuando h es 1, X es hidrógeno,

10 o b) R_1 y R_2 , junto con el átomo de nitrógeno al
que están ligadas, significan un radical
de fórmula VIII



en donde

o R_9 y R_{10} , independientemente, son hidró-

geno, flúor, cloro, trifluometilo o

alquilo C_{1-4} o alcoxi, y

C_{11} es hidrógeno o alcoxi C_{1-4} , con la condición de que cuando R_{11} es alcoxi,

5

y R_9 y R_{10} tienen ambas un significado que no sea hidrógeno, entonces por lo menos una de R_9 y R_{10} es alcoxi,

ó R_9 y R_{10} están ligadas a átomos de carbono

10

contiguos y juntas significan $-(CH_2)_m-$,

en donde m es 3 ó 4; $-CH=CH-CH=CH-$;

ó $-O-CH_2-B$, en donde B tiene el significado antes indicado, y

R_{11} es hidrógeno, flúor, cloro, trifluometilo o alquilo C_{1-4} o alcoxi.

15

En un grupo de compuestos, de acuerdo con la invención, A tiene el significado indicado en la sección (i) (A siendo entonces A'), es decir un residuo de un ácido graso de cadena larga, teniendo tal residuo de 7 a 23 átomos de carbono y de 1 a 4 posiciones no saturadas etilénicamente. Estos residuos

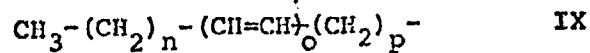
20

se derivan así de ácidos grasos de cadena larga de fórmula $A'-COOH$ conteniendo de 8 a 24 átomos de carbono y de 1 a 4 posiciones no saturadas etilénica-

mente. Estos ácidos son preferentemente no ramificados y preferentemente son del orden de ácidos grasos naturales, es decir aquellos que contienen un número par de átomos de carbono. Así A' preferentemente es no ramificada y preferentemente contiene un número impar de átomos de carbono.

Los residuos A' particularmente preferidos incluyen los de fórmula IX (residuos A'₁) y X (residuos

A'₂):-

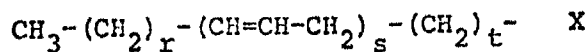


en donde n es 1 a 10,

o es 1 a 4, y

p es 3 a 9,

con la condición de que $n + 2 \times o + p$ no exceda 23,



en donde r es 1 a 4,

s es 2 a 4, y

t es 1 a 7,

con la condición de que $r + 3 \times s + t$ no exceda 23.

Los residuos de fórmula IX preferidos son aquellos en donde $n + 2x + o + p$ es un número impar, particularmente aquellos en donde $n = 5$ ó 7 , $o = 1$ y $p = 7$. Los residuos de fórmula X preferidos son aquellos en donde $r + 3x + s + t$ es un número impar, particularmente aquellos en donde r es 1 ó 4 , s es 2 a 4 , y t es 2 ó 6 .

Deberá apreciarse que los compuestos en donde A es A' se presentan en formas isoméricas debido a la presencia de una o más posiciones no saturadas. Aunque la invención no ha de quedar limitada a cualquier forma isomérica particular, se prefieren los compuestos en donde los átomos de hidrógeno en cada par de átomos de carbono no saturados etilénicamente tienen la configuración cis.

Los radicales A' particularmente preferidos incluyen aquellos derivados de los ácidos siguientes:- ácidos palmitólico, oleico, petroselínico, vaccénico, punícico (o eleosteárico), parinárico, gadoleico, cetoleico, linoleico, linolénico y araquidónico, más particularmente los ácidos oleico, linoleico, linolénico, araquidónico y palmitólico.

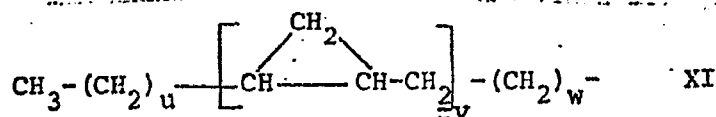
En otro grupo de compuestos de acuerdo con la invención, A tiene el significado indicado en la sección (ii) (A siendo entonces A"), es decir derivados ciclopropanílicos de residuos A' en donde cada parte etilénica -CH=CH- está reemplazada por la parte

ciclopropanílica $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ -\text{CH} \text{---} \text{CH}- \end{array}$. Se prefiere que los

residuos A" sean no ramificados [aparte del radical o

radicales ciclopropanilo]. Residuos A" particulares

son aquellos de fórmula XI (A" siendo entonces A₁").



10 en donde u es 1 a 15,

v es 1 ó 2, y

w es 1 a 13,

con la condición de que cuando v es 1, entonces

u + w es 3 a 19, y

15 de que cuando v es 2, entonces u + w es 2 a

16.

Residuos A₁" de fórmula XI particularmente preferidos son como sigue:-

(i) cuando v es 1, entonces $u + w = 7$ a 19,

cuando v es 2, entonces $u + w = 4$ a 16;

(ii) cuando v es 1, entonces $u + w =$ un número impar,

5 cuando v es 2, entonces $u + w =$ un número par;

(iii) cuando v es 1, entonces $u = 5$ ó 7 y $w = 6$,

cuando v es 2, entonces $u = 4$ y $w = 6$.

10 En vista de estas preferencias, deberá apreciarse que los radicales A" preferidos se derivan de ácidos grasos mono- o di-no saturados del tipo que se encuentra en la naturaleza, por ej. ácido palmitóico u oleico ($v = 1$) y ácido linoleico ($v = 2$).

15 También deberá apreciarse que los compuestos en donde A es A" existen en formas isoméricas. Aunque la invención no ha de quedar limitada a cualquier forma isomérica particular, se prefiere que cada par de átomos de hidrógeno, ligados a los átomos de carbono terciarios de las partes ciclopropilo tenga
20 la configuración cis.

Como los residuos A" con una sola unidad ciclopropílica tienen un número menor de átomos de carbono asimétricos que aquellos con una pluralidad,

los primeros generalmente son más fáciles de refinar y, por lo tanto, son los preferidos cuando la facilidad de purificación es un factor importante.

En un grupo de compuestos (en adelante denominados compuestos Ia), A es A', R₁ es hidrógeno y R₂ es un radical de fórmula IV, en donde h es O. En estos compuestos Ia, X es -COOR₇. Cuando R₇ es alquilo, éste preferentemente es no ramificado y con mayor preferencia es etilo. Cuando R₄ es alquilo, éste preferentemente es metilo, cuando es alcoxi, preferentemente es metoxi, y cuando es halógeno preferentemente es flúor o cloro. Cuando R₄ tiene un significado que no sea hidrógeno, entonces se encuentra preferentemente en la posición 5 del núcleo indólico. Sin embargo, R₄ preferentemente es hidrógeno. R₈ también es preferentemente hidrógeno.

En un segundo grupo de compuestos (en adelante denominados compuestos Ib), Z es A', R₁ es hidrógeno y R₂ es un radical de fórmula V en donde h es O. En estos compuestos Ib, se prefiere que k sea 1 y que el radical A-CO-NH- esté ligado a un átomo de carbono de la parte cicloalquímica que es contigua a un carbono de unión del anillo. Cuando R₄ tiene un significado

que no sea hidrógeno, entonces se encuentra preferentemente en una posición orto con relación a un carbono de unión del anillo. Cuando R_5 también tiene un significado que no sea hidrógeno, entonces se prefiere que esté en una posición para con relación a R_4 y que sea igual a R_4 . Cuando R_3 o R_4 es alquilo, éste preferentemente es metilo y cuando R_3 o R_4 es alcoxi, éste preferentemente es metoxi.

En un tercer grupo de compuestos (en adelante denominados Ic), A es A', R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula II en donde h es 1. En estos compuestos Ic, cuando R_4 tiene un significado que no sea hidrógeno y R_5 es hidrógeno, entonces se prefiere que R_4 se encuentre en la posición 2. Cuando R_4 y R_5 tienen ambas un significado que no sea hidrógeno, entonces se prefiere que sean iguales y que ocupen las posiciones 2 y 6 del anillo fenílico. Cuando R_3 es un radical de fórmula VI, los substituyentes Y e Y_1 también ocupan preferentemente las posiciones 2 y/o 6 cuando no son hidrógeno y preferentemente son iguales cuando cada una de ellas tiene un significado que no sea hidrógeno. Cuando R_4 o R_5 o Y o Y_1 es alquilo o alcoxi, es preferible que sea metilo o metoxi.

En un cuarto grupo de compuestos (en adelante denominados compuestos Id), Z es A', R₁ es hidrógeno y R₂ es un radical de fórmula III en donde h es l. En estos compuestos Id, se prefiere que cuando R₅ tiene un significado que no sea hidrógeno y R₆ es hidrógeno, entonces R₅ esté situada en la posición 2. Cuando R₅ y R₆ tienen ambas un significado que no sea hidrógeno, entonces se prefiere que sean iguales (excepto cuando R₆ es bromo o un radical de fórmula VII) y de que ocupen las posiciones 2 y 6 del anillo fenílico. Cuando R₆ es un radical de fórmula VII, éste preferentemente ocupa la posición para y cuando R₄ no es hidrógeno, también se encuentra preferentemente en la posición para.

En un quinto grupo de compuestos (en adelante denominados compuestos Ie), A es A', R₁ es hidrógeno y R₂ es un radical de fórmula IV en donde h es l. En estos compuestos Ie, X es hidrógeno. Por otra parte, las posiciones preferidas son iguales como las antes descritas para los compuestos Ia.

En un sexto grupo de compuestos (en adelante denominados compuestos If), Z es A', R₁ es hidrógeno y R₂ es un radical de fórmula V en donde h

es 1. En estos compuestos If, las posiciones preferidas son iguales a las descritas anteriormente para los compuestos Ib.

En un séptimo grupo de compuestos (en adelante denominados compuestos Ig), A es A', y R₁ y R₂ junto con el átomo de nitrógeno al que están ligadas significan un radical de fórmula VIII. En estos compuestos Ig, cuando R₉, R₁₀ o R₁₁ son alquilo o alcoxi, éstos preferentemente contienen 1 ó 2 átomos de carbono, con mayor preferencia un átomo de carbono. Cuando R₉ y R₁₀ juntas son $-(CH_2)_m-$, $-CH=CH-CH=CH-$ o $-O-CH_2-B-$, entonces R₁₁ preferentemente es hidrógeno. Cuando R₉ y R₁₀ son flúor, cloro o alcoxi, entonces preferentemente son idénticas. Cuando se hallen presentes 2 ó 3 substituyentes alcoxi, entonces éstos preferentemente son idénticos. Cuando R₉ y R₁₀ son ambas trifluometilo, entonces preferentemente están ligadas a átomos de carbono no contiguos y preferentemente se encuentran en una posición meta la una con relación a la otra y con relación al doble enlace exocíclico.

En grupos de compuestos adicionales, A es A" y R₁ es hidrógeno y R₂ es un radical de fórmula II en donde h es O (compuestos Ih);

- o R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula III en donde h es 0 (compuestos Ii);
- o R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula IV en donde h es 0 (compuestos Ij);
- 5 o R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula V en donde h es 0 (compuestos Ik);
- o R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula II en donde h es 1 (compuestos Il);
- o R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula III en donde h es 1 (compuestos Im);
- 10 o R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula IV en donde h es 1 (compuestos In);
- o R_1 es hidrógeno y R_2 es un radical de fórmula V en donde h es 1 (compuestos Io);
- 15 o R_2 y R_3 junto con el átomo de nitrógeno al que están ligadas significan un radical de fórmula VIII (compuestos Ip).

Las posiciones preferidas para estos compuestos Ih a Ip son iguales a las indicadas anteriormente para los compuestos en donde A es A'.

20

Los compuestos de la invención preferidos son aquellos en donde h es 0 y con mayor preferencia los compuestos Ia.

La invención también proporciona un procedimiento para la producción de los compuestos de fórmula I, caracterizado porque se acila un compuesto de fórmula XII,



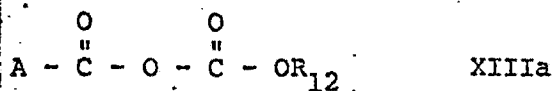
5 en donde R_1 y R_2 tienen los significados previamente indicados,

con un ácido de fórmula XIII,



en donde A tiene el significado previamente indicado, o con un derivado reactivo del mismo.

10 La acilación puede llevarse a cabo en forma de por sí conocida para la conversión de una función amina en su amida correspondiente. Por ejemplo, el procedimiento puede efectuarse usando la técnica del anhídrido mixto en donde el compuesto de
15 fórmula XII se trata con un compuesto de fórmula XIIIa,

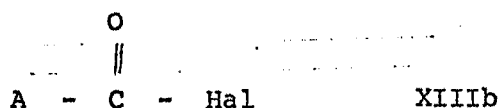


en donde A tiene el significado previamente indicado,

y R_{12} es n-alkilo C_{1-6} .

Esta variante del procedimiento puede llevarse a cabo convenientemente a una temperatura de -10° a $+35^{\circ}\text{C}$,

5 y en un medio orgánico inerte, por ejemplo un hidrocarburo clorado, tal como cloruro de metileno. Alternativamente puede tratarse el compuesto de fórmula XII con un haluro de ácido de fórmula XIIIb,



en donde A tiene el significado previamente indicado,

10 y Hal es cloro o bromo.

Esta variante del procedimiento se efectúa convenientemente a una temperatura de 10° a 50°C , preferentemente de 20° a 30°C , en un medio inerte y en presencia de un aceptor de ácidos.

En el procedimiento de acilación, el compuesto de fórmula XII puede ser empleado en forma de una sal de adición de ácido y puede usarse un exceso de los reactivos, cuando éstos son líquidos bajo las condiciones de la reacción, con el fin de que sirvan como medio de reacción.

Deberá apreciarse que el procedimiento de acilación de la invención no afecta a la forma isomérica de los materiales de partida de modo que los productos resultarán en la misma forma isomérica como los materiales iniciales.

Los compuestos de fórmula I resultantes pueden ser aislados y purificados usando las técnicas de por sí conocidas.

Los compuestos de fórmula XII son conocidos o pueden ser producidos en forma de por sí conocida a partir de materiales disponibles.

Los compuestos de fórmula XIIIc,



en donde A' tiene el significado previamente indicado, también son conocidos o pueden ser producidos en forma de por sí conocida a partir de materiales disponibles.

Los compuestos de fórmula XIIIId,

A" - COOH

XIIIId

- 5 en donde A" tiene el significado previamente indicado, también son conocidos y pueden producirse, por ejemplo, convirtiendo las posiciones no saturadas etilénica-
mente en los compuestos de fórmula XIIIId correspondientes en grupos ciclopropanílicos. Esto puede efectuarse
10 en forma de por sí conocida, por ejemplo mediante reacción con diyoduro de metileno por el método de
Simmons-Smith [J.A.C.S. 81, 4256 (1959)]. Para la preparación de compuestos que tienen un grupo ciclopropanílico único, los ácidos de partida pueden tener la
15 forma cis o trans y el producto tendrá la misma forma. Igualmente, las mezclas de formas cis y trans conducirán a las mezclas correspondientes del producto. Cuando se reacciona un ácido ciclopropánico (o derivado)
20 con un compuesto de fórmula XII, que tiene átomos de carbono asimétricos, deberá apreciarse que el compuesto de fórmula I resultante se obtendrá como una mezcla

de diastereoisómeros, la que, si se desea, puede ser separada en forma conocida, por ejemplo mediante cromatografía o cristalización. Alternativamente, si se desea, el ácido ciclopropánico de partida puede ser separado en sus antípodas y luego reaccionado para dar el producto isomérico correspondiente en forma relativamente pura. De igual modo, para la preparación de ácidos ciclopropánicos que tienen 2 o más unidades ciclopropanílicas, los ácidos olefínicos de partida tienen un número correspondiente de enlaces dobles y la reacción de Simmons-Smith conduce a una mezcla de diastereoisómeros, la que, si se desea, puede ser separada antes de seguir reaccionando.

Los compuestos de fórmulas XIIIa y XIIIb pueden ser producidos a partir de los ácidos libres en forma de por sí conocida, de ser conveniente in situ.

Los compuestos de fórmula I de esta invención poseen actividad farmacológica. El uso de los compuestos de fórmula I está indicado particularmente para el control del contenido de éster colesterínico en las paredes arteriales mamarias y, por lo tanto, su uso está indicado particularmente como agentes

antiateroscleróticos, es decir agentes útiles en el
tratamiento profiláctico de la aterosclerosis y en el
control de las condiciones ateroscleróticas debidas a
la acumulación de éster colesterínico en las paredes
5 arteriales. Tal habilidad de los compuestos de fórmula
I puede comprobarse mediante procedimientos de ensayo
conocidos en donde se muestra que el contenido total
de éster colesterínico de células cultivadas es redu-
cido por el compuesto de ensayo, en comparación con las
10 células no tratadas, y puede llevarse a cabo, por
ejemplo mediante los procedimientos siguientes:-

A) Cultivo de células

Células de músculos lisos de monos Rhesus
(de la pared arterial, por ej. aorta) obtenidas median-
15 te el método de K. Fisher-Dzoga et al [Experimental
and Molecular Pathology 18, 162-176 (1973)] se cultivan
en forma usual en matraces de cultivo de tejidos de 75cm²
usando Minimum Essential Medium (Eagle) complementado
con 10% de suero bovino fetal. Para el ensayo se
20 selecciona un matraz de 75 cm² con un desarrollo de
las células de confluencia cercana. Las células se
separan de la superficie del matraz mediante trata-

miento enzimático suave con pronasa. Después de centrifugar y de decantar la solución enzimática, se vuelven a suspender las bolas de células en un volumen apropiado de medio para sembrar el número deseado de cápsulas de cultivo de tejido de 60 mm. Cinco (5) cc de la suspensión diluida de células se colocan en cada cápsula mediante una pipeta. Después de sembrar, las cápsulas se rotulan con el tipo de célula, fecha y número del matraz de origen y se incuban a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5% aproximadamente en un incubador de humedad alta. Cuando los cultivos se presentan confluentes, se comienza el verdadero ensayo de la droga. Los compuestos de ensayo se solubilizan en la forma habitual en etanol al 100%. También se añade una cantidad equivalente de etanol a los grupos de control. Las cápsulas de cultivo de tejidos se dividen en dos grupos al azar. A un grupo se le añade suero de conejo hiperlipémico (SCH) al 5% por volumen (control). A los demás grupos se les añade 5% de SCH y 1 mg por 100 cc del medio del compuesto de ensayo. Las cápsulas se colocan nuevamente en el incubador durante otras 24 horas. Todas las operaciones hasta la incubación final se ejecutan usando una técnica

ca estéril en una campana de flujo laminar. Después del período de incubación, las cápsulas se observan microscópicamente con un Zeiss Axiomat con óptica de contraste de fases y se registran las condiciones de los cultivos; especialmente en cuanto al tamaño, número y configuración de inclusiones citoplásmicas y a la morfología celular. El medio se separa de los cultivos y se añade una solución de cloruro de sodio al 0,9%. Las células se separan de los matraces con la ayuda de un policeman de goma y se transfieren a un tubo de centrifuga graduado, cónico. Las células se lavan tres veces mediante suspensión en una solución isotónica de sal, centrifugando a 800 x g durante 10 minutos y aspirando el líquido que sobrenada.

15 B) Procedimiento de extracción de células

A las bolas de células se les añade un volumen apropiado de alcohol isopropílico (aprox. 1 cc/mg de proteína) y la muestra se somete a la prueba de sonido con una microprueba (140 x 3 mm) durante 10 segundos ajustando el "LO" a 50 en un Bronwell Biosonik IV. Después de centrifugar durante 15 minutos a 800 x g, el material claro que sobrenada se decanta y se

toma un alícuota para el análisis de colesterol.

El residuo se disuelve en hidróxido de sodio 0,1 normal y se toma un alícuota para la determinación de la proteína mediante el método de Lowry et al. (J. Biol. Chem. 193, 265; 1951).

C) Ensayo

Colesterol libre: Las soluciones en alcohol isopropílico de los standards, de las muestras y soluciones en blanco (alcohol isopropílico solo) se tratan en forma semejante. Un alícuota de 0,4 cc de reactivo libre (Reactivo A, Tabla 1 siguiente) se añade a un tubo de ensayo de vidrio desechable de 10 x 75 mm al que se añaden 20 μ l de la solución en alcohol isopropílico y se mezcla. Después de reposar a temperatura ambiente durante aproximadamente 5 minutos, se añade 0,8 cc de hidróxido de sodio 0,5 normal (Reactivo C, Tabla 1) y se mezcla. Se mide la fluorescencia con un espectrofotofluorómetro Aminco-Bowman con un largo de onda de excitación de 325 nm y un largo de onda de emisión de 415 nm. Se usa una cubeta con trayecto de luz de 1 cm con una lámpara de xenón, un tubo fotomultiplicador IP28 y ranuras de 2 mm.

Colesterol total: Se sigue el mismo procedimiento como el descrito anteriormente para el colesterol libre para determinar el colesterol total, excepto que se usa el reactivo total (Reactivo B, 5 Tabla 1) en lugar del reactivo libre y las muestras se incuban durante 20 minutos a 37° antes de la adición de la solución de hidróxido de sodio 0,5 normal (Reactivo C, Tabla 1).

10 Alternativamente puede llevarse a cabo el ensayo para el colesterol, es decir la etapa C (anterior) obtenida de las etapas A y B, mediante el método de Ishikawa et al (J. Lipid Res. 15, 236; 1974).

La cantidad de ester colesterínico se
15 averigua substrayendo la cantidad de colesterol libre del contenido total de colesterol de las células que se ha determinado mediante el ensayo. El hallazgo de una cantidad menor de ester colesterínico en el grupo de células al que se ha añadido el compuesto de ensayo, en comparación con el grupo de control (no tratado) in-
20 dica que el compuesto de ensayo es activo en la re-
ducción del éster colesterínico en las células.

TABLA 1

Composición de Reactivos para la Determinación
del colesterol

| | | | |
|----|--|-----|--------|
| | <u>A. Reactivo de Colesterol Libre</u> | | |
| 5 | Buffer de fosfato de sodio pH 7,0 | ,05 | M |
| | Oxidasa de colesterol | ,08 | U/ml |
| | Peroxidasa de rábano silvestre | 30, | U/ml |
| | Acido p-hidroxifenilacético | ,15 | mg/ml |
| | <u>B. Reactivo de Colesterol Total</u> | | |
| 10 | Buffer de fosfato de sodio pH 7,0 | ,05 | M |
| | Hidrolasa de éster colesterínico | ,08 | U/ml |
| | Oxidasa de colesterol | ,08 | U/ml |
| | Peroxidasa de rábano silvestre | 30, | U/ml |
| | Taurocolato de sodio | 5, | mM |
| 15 | Carbowax-6000 | ,17 | mM |
| | Acido p-hidroxifenilacético | ,15 | mg/ml |
| | <u>C. Solución de Hidróxido de Sodio</u> | ,5 | normal |

Para el uso previamente indicado, una dosificación diaria adecuada indicada es de aprox. 100 mg a aprox. 5000 mg, administrada convenientemente en dosis divididas de 25 a 2500 mg, dos a cuatro veces por día, o en forma de preparación de acción retardada.

Los compuestos pueden ser mezclados con los soportes o diluyentes farmacéuticamente aceptables, usuales, y facultativamente con otros excipientes, y

pueden ser administrados en formas tales como tabletas o cápsulas.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención.

5 EJEMPLO 1: Ester etílico del ácido α -[(1-oxo-9,12-cis,cis-octadecadienilamino)]-1H-indol-3-propanoico

2,5 g de trietilamina se añaden a una solución de 7,0 g de ácido linoleico en 150 cc de cloruro de metileno, enfriada hasta -20° y a continuación se
10 le añaden 2,7 g de cloroformato de etilo. La mezcla de la reacción se agita durante 2 horas y se deja calentarse gradualmente hasta temperatura ambiente. Luego se añaden 2,5 g de trietilamina seguidos por 6,7 g de
15 clorhidrato de ester etílico de triptófano DL y la mezcla de la reacción se agita durante 18 horas. Luego se extrae la mezcla de la reacción varias veces con hidróxido de sodio acuoso 2 normal, se lava con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, y la fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra
20 y el filtrado se evapora en un vacío hasta sequedad. El residuo se filtra luego sobre gel de sílice usando cloroformo como eluyente con el fin de obtener el pro-

ducto del título en forma de sólido ceroso.

EJEMPLO 2:

Procediendo en forma análoga al ejemplo 1 y empleando materiales de partida apropiados en cantidades aproximadamente equivalentes, pueden obtenerse los compuestos siguientes:-

- 5
- a) éster etílico del ácido α -[(1-oxo-9-cis-octadecenilamino)]-1H-indol-3-propanoico (sólido ceroso);
- 10 b) ester etílico del ácido α -[(1-oxo-9,12,15-cis,cis,cis-octadecatrienilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- c) ester etílico del ácido α -[(1-oxo-9-cis-hexadecenilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- 15 d) éster etílico del ácido α -[(1-oxo-5,8,11,14-cis,cis,cis-eicosatetraenilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- e) ester etílico del ácido 2-(1-oxo-9-cis-octadecenilamino)-3-(1-metilindolil)-propanoico;
- 20 f) éster etílico del ácido 2-(1-oxo-9-cis-octadecenilamino)-3-(1H-5-metoxi-indolil)-propanoico;

- g) éster etílico del ácido 2-(1-oxo-9-cis-octa-
decenilamino)-3-(1H-5-cloroindolil)-propanoico;
- h) éster etílico del ácido 2-(1-oxo-9-cis-octa-
decenilamino)-3-(1-bencilindolil)-propanoico;
- 5 i) éster n-propílico del ácido α -[(1-oxo-9,12-cis,
cis-octadecadienilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- j) éster n-butílico del ácido α -[(1-oxo-9,12-cis,
cis-octadecadienilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- k) éster n-octílico del ácido α -[(1-oxo-9,12-cis,
10 cis-octadecadienilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- l) éster bencílico del ácido α -[(1-oxo-9,12-cis,cis-
octadecadienilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- m) éster n-propílico del ácido α -[(1-oxo-9-cis-
octadecenilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- 15 n) éster n-butílico del ácido α -[(1-oxo-9-cis-
octadecenilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- o) éster n-octílico del ácido α -[(1-oxo-9-cis-
octadecenilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- p) éster bencílico del ácido α -[(1-oxo-9-cis-octa-
20 decenilamino)]-1H-indol-3-propanoico;
- q) N-(1-indanil)-cis,cis-9,12-octadecadienamida,
[aceite viscoso];
- r) N-(1-indanil)-cis-9-octadecenilamida;

- s) N-(1-indanil)-cis,cis,cis-9,12,15-octadecatrienil-
amida;
- t) N-(1-indanil)-cis-9-hexadecenilamida;
- u) N-(1-indanil)-cis,cis,cis,cis-5,8,11,14-eicosa-
5 tetraenilamida;
- v) N-(2-indanil)-cis-9-octadecenilamida;
- w) N-[1-(7-metilindanil)]-cis-octadecenilamida;
- x) N-[1-(7-cloroindanil)]-cis-octadecenilamida;
- y) N-[1-(4,7-dimetoxiindanil)]-cis-octadecenilamida;
- 10 z) N-[1-(1,2,3,4-tetrahidronaftil)]-cis-octadecenil-
amida;
- aa) N-(α -metilbencil)-cis-2-octil-ciclopropanoictana-
mida; [P.F. 44-46°] (producida a partir de d(+)-
 α -metilbencilamina);
- 15 ab) N-(1-indanil)-cis-2-octil-ciclopropanoictanamida;
- ac) éster etílico del ácido α -[(-1-oxo-cis-2-octil)-
ciclopropanoictilamino)]-1H-indol-3-propanoico
 (producido de d,l- α -metilbencilamina);
- ad) N-(α -metilbencil)-cis-2-octil-ciclopropanoictana-
20 mida; (mezcla de 2 racematos; P.F. 30-32°);
- ae) N-(o-metilfenil)-cis-2-octil-ciclopropanoictana-
mida;
- af) N-[α -(p-metilbencil)-bencil]-cis-2-octil-ciclo-

- propanoetanamida;
- ag) N-(α -metilbencil)-cis-2-hexil-ciclopropanoetanamida;
- ah) N-(α -metilbencil)-trans-2-octil-ciclopropanoetanamida;
- 5 ai) N-(α -metilbencil)-cis-2-tetradecilciclopropanobutanamida;
- aj) N-[α -(p-metilbencil)-p-metil-feniletil]-cis-2-octil-ciclopropanoetanamida;
- 10 ak) N-(α -metilbencil-cis,cis-2-[(2-pentilciclopropil)-metil]ciclopropanoetanamida; (mezcla de diastereoisómeros) - aceite - producido de d(+)- α -metilbencilamina;
- al) N-(1-indanil)-cis,cis-2-[(2-pentilciclopropil)-metil]-ciclopropanoetanamida;
- 15 am) éster etílico del ácido α -cis,cis-[(1-oxo-2-pentilciclopropil)-metil]-ciclopropanoetanamino-1H-indol-3-propanoico; (de clorhidrato de éster etílico de DL-triptófano);
- 20 an) N-(α -metilbencil)-cis,cis-2-[(2-pentilciclopropil)-metil]-ciclopropanoetanamida (mezcla de diastereoisómeros) - producida de (d,l)- α -metilbencilamina;
- ao) N-(o-metilfenil)-cis,cis-2-[(2-pentilciclopropil)-

- metil]-ciclopropanoetanamida;
- ap) N-[α -(bencil)- β -(fenil)etil]-cis-2-octilciclopropanoetanamida [P.F. 40-45°];
- 5 ag) ácido cis-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-(o-metilfenil)-hidracida, [sólido ceroso];
- ar) ácido cis-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-(1-indanil)-hidracida;
- as) ácido cis-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-[β -(3-indoliletíl)]-hidracida;
- 10 at) ácido cis-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-(α -metilbencil)-hidracida (mezcla de racematos) - obtenida de (d,l)- α -metilbencil-hidracida;
- au) ácido cis-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-(o-clorofenil)-hidracida;
- 15 av) ácido cis-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-[α -(p-metilbencil)-bencil]-hidracida;
- aw) ácido cis-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-bencil-hidracida (en forma de cera) - obtenida de ~~di-~~ clorhidrato de bencilhidracina;
- 20 ax) ácido cis-2-hexil-ciclopropanoetanoico, 2-(o-metilfenil)-hidracida;
- ay) ácido trans-2-octil-ciclopropanoetanoico, 2-(o-metilfenil)-hidracida;

- az) ácido cis-2-tetradecilciclopropano-butanoico,
2-(o-metilfenil)-hidracida;
- aaa) ácido cis,cis-2-[(2-pentilciclopropil)-metil]-
ciclopropanoctanoico, 2-(o-metilfenil)-hidracida;
- 5 aab) ácido cis-2-octil-ciclopropanoctanoico, 2-[α -
(p-metilbencil)-p-metil-feniletíl]-hidracida;
- aac) ácido cis,cis-2-[(2-pentil-ciclopropil)-metil]-
ciclopropanoctanoico, 2-(1-indanil)-hidracida;
- aad) ácido cis,cis-2-[(2-pentil-ciclopropil)-metil]-
10 ciclopropanoctanoico, 2-[β -(3-indolil-etil)]-
hidracida;
- aae) ácido cis,cis-2-[(2-pentil-ciclopropil)-metil]-
ciclopropanoctanoico, 2-(α -metil-bencil)-hidracida;
- aaf) ácido cis,cis-2-[(2-pentil-ciclopropil)-metil]-
15 ciclopropanoctanoico, 2-(o-clorofenil)-hidracida;
- aag) ácido cis,cis-2-[(2-pentil-ciclopropil)-metil]-
ciclopropanoctanoico, 2-[α -(p-metil-bencil)-
bencil]-hidracida;
- aah) ácido cis,cis-2-[(2-pentil-ciclopropil)-metil]-
20 ciclopropanoctanoico, 2-bencil-hidracida;
- aaí) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-bencil-
hidracida; [aceite viscoso];

- aa j) ácido cis-9-octadecanoico, 2-bencil-hidracida;
- aa k) ácido cis,cis,cis-9,12,15-octadecatrienoico, 2-bencil-hidracida;
- aa l) ácido cis-9-hexadecenoico, 2-bencil-hidracida;
- 5 aa m) ácido cis,cis,cis,cis-5,8,11,14-eicosatetraenoico, 2-bencil-hidracida;
- aa n) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-(o-metilfenil)-hidracida (en forma de aceite);
- aa o) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-(2,6-diclorofenil)-hidracida, (en forma de aceite);
- 10 aa p) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-(o-clorofenil)-hidracida (en forma de aceite);
- aa q) ácido cis-9-octadecenoico, 2-(o-metilfenil)-hidracida (en forma de aceite);
- 15 aa r) ácido cis-9-octadecenoico, 2-(2,6-diclorofenil)-hidracida;
- aa s) ácido cis-9-octadecenoico, 2-(o-clorofenil)-hidracida;
- aa t) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-[β -(3-indolil-etil)]-hidracida;
- 20 aa u) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-(1-indanil)-hidracida;
- aa v) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-(α -metil-

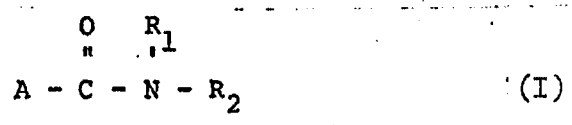
- bencil)-hidracida; (obtenida de (d,l)- α -metilbencilhidracina);
- aaw) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-[α -(p-metilbencil)-bencil]-hidracida;
- 5 aax) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-[α -(p-metilbencil)-p-metilfeniletíl]-hidracida;
- aay) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-(p-bifenilil)-hidracida;
- aaz) ácido cis,cis-9,12-octadecadienoico, 2-(p-bencilfenil)-hidracida;
- 10 aaaa) ácido cis-9-octadecenoico, 2-[β -(3-indolil-etil)]-hidracida;
- aaab) ácido cis-9-octadecenoico, 2-(1-indanil)-hidracida;
- 15 aaac) ácido cis-9-octadecenoico, 2-(α -metilbencil)-hidracida;
- aaad) ácido cis-9-octadecenoico, 2-[α -(p-metilbencil)-bencil]-hidracida;
- aaae) ácido cis-9-octadecenoico, 2-[α -(p-metilbencil)-p-metilfeniletíl]-hidracida;
- 20 aaaf) ácido cis-9-octadecenoico, 2-(p-bifenilil)-hidracida;

- aaag) ácido cis-9-octadecenoico, 2-(p-bencilfenil)-
hidracida;
- 5 aaah) 1-(1-oxo-9,12-cis,cis-octadecadienil)-(3aRS,4RS,
7aRS)-4-(Z)-(3,4-dimetoxi)-estiril-hexahidro-4-
indolinol [aceite] [producido de maleato de
(3a,RS,4RS,7aRS)-4-(Z)-(3,4-dimetoxi)-estiril-
hexahidro-4-indolinol];
- 10 aaai) 1-(1-oxo-9-cis-octadecenil)-(3aRS,4RS,7aRS)-4-
(Z)-(3,4-dimetoxi)-estiril-hexahidro-4-indolinol;
y los análogos
- aaaj) 1-(1-oxo-9,12,15-cis,cis,cis-octadecatrienil);
- aaak) 1-(1-oxo-9-cis-hexadecenil); y
- aaal) 1-(1-oxo-5,8,11,14-cis-cis-cis-cis-eicosa-
tetraenil)-amidas del hexahidroindolinol;
- 15 aaam) 1-[1-oxo-2-cis-octilciclopropanoetil]-(3aRS,4RS,
7aRS)-4-(Z)-(3,4-dimetoxi)-estiril-hexahidro-4-
indolinol;
- 20 aaan) 1- { 1-oxo-cis,cis-2-[(2-pentilciclopropil)-
metil]-ciclopropanoetil } -(3aRS,4RS,7aRS)-4-Z-
(3,4-dimetoxi)-estiril-hexahidro-4-indolinol.

En resumen la Patente de Invención que se soli-
cita debiera recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES:-

1. Un procedimiento para la preparación de nuevas amidas de fórmula general (I)

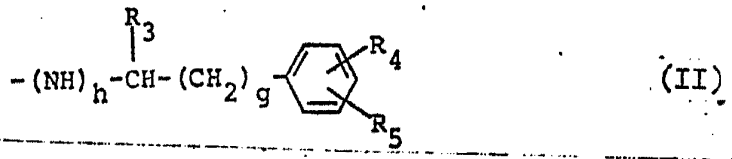


en donde

A es (i) el resto de un ácido graso no saturado de cadena larga (menos la función de ácido carboxílico), cuyo resto tiene de 7 a 23 átomos de carbono y posee de 1 a 4 grupos no saturados etilénicamente, o

(ii) un resto correspondiente en donde cada grupo etilénico (-CH=CH-) está reemplazado por un grupo ciclopropanilo $\left(\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ / \quad \backslash \\ -\text{CH} - \text{CH}- \end{array} \right)$,

y, o a) R₁ es hidrógeno, y R₂ es un radical de fórmula (II), (III), (IV) o (V),



en donde

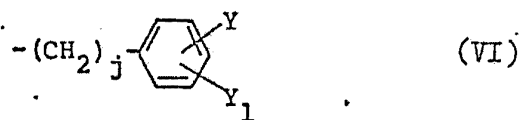
h es 0 ó 1,

g es 0 ó 1,

R₄ es hidrógeno, flúor, cloro, bromo o alquilo C₁₋₃ o alcoxi,

R₅ es hidrógeno, flúor, cloro, o alquilo C₁₋₃ o alcoxi, y

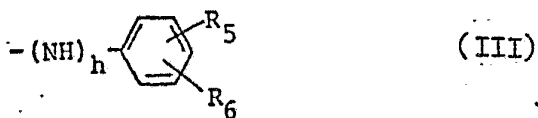
R₃ es hidrógeno, alquilo C₁₋₈ o un radical de fórmula (VI)



en donde j es 0 ó 1,

Y es hidrógeno, flúor, cloro, bromo o alquilo C₁₋₃ o alcoxi,

e Y₁ es hidrógeno, flúor, cloro, o alquilo C₁₋₃ o alcoxi



en donde

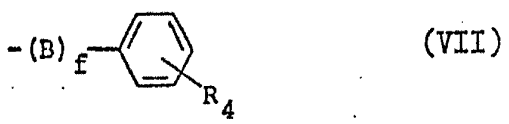
h y R₅ tienen los significados previamente indicados,

5

10

15

y R_6 es hidrógeno, flúor, cloro, bromo, alquilo C_{1-3} o alcoxi, o un radical de fórmula (VII).

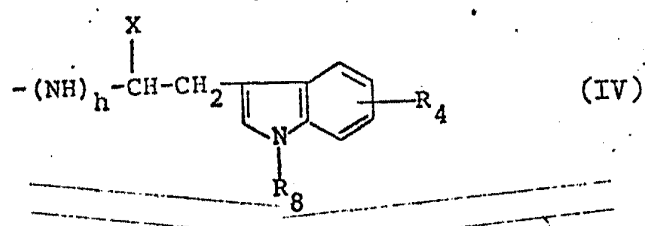


en donde B es $-\text{CH}_2-$ ó $-\text{O}-$,

f es 0 ó 1, y

R_4 tiene el significado antes indicado,

5



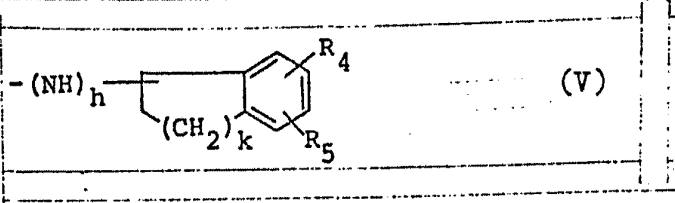
en donde

h y R_4 tienen los significados antes indicados,

X es hidrógeno o $-\text{COOR}_7$, en donde R_7 es alquilo C_{1-8} o bencilo, y

R_8 es hidrógeno, alquilo C_{1-8} o bencilo,

10



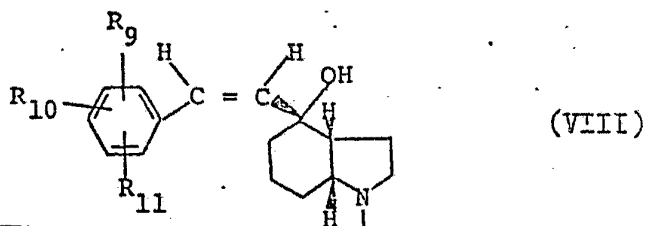
en donde

h, R_4 y R_5 tienen los significados antes
indicados, y

k es 1, 2, 3 ó 4,

5 con la condición de que cuando R_2 es un radical de
fórmula II ó III en donde h es 0, entonces A tiene
el significado indicado en la sección (ii), y de que
cuando R_2 es un radical de fórmula IV, entonces cuan-
do h es 0, X es $-\text{COOR}_7$, y cuando h es 1, X es hidró-
10 geno,

o b) R_1 y R_2 , junto con el átomo de nitrógeno al
que están ligadas, significan un radical
de fórmula (VIII),



en donde

15 o R_9 y R_{10} , independientemente, son
hidrógeno, flúor, cloro, trifluo-
metilo o alquilo C_{1-4} o alcoxi, y
 R_{11} es hidrógeno o alcoxi C_{1-4} , con la

condición de que cuando R_{11} es alcoxi,
 y R_9 y R_{10} tienen ambas un significado
 que no sea hidrógeno, entonces por lo
 menos una de R_9 y R_{10} es alcoxi,

5

ó R_9 y R_{10} están ligadas a átomos de carbono
 contiguos y juntas significan $-(CH_2)_m-$,
 en donde m es 3 ó 4; $-CH=CH-CH=CH-$;
 ó $-O-CH_2-B$, en donde B tiene el signi-
 ficado antes indicado, y

10

R_{11} es hidrógeno, flúor, cloro, trifluo-
 metilo o alquilo C_{1-4} o alcoxi,

caracterizado porque se somete a reacción de acilación
 un compuesto de fórmula (XII),



en donde R_1 y R_2 tienen los significados previamente
 indicados,

15

con un ácido de fórmula (XIII),



en donde A tiene el significado previamente indicado,
 o con un derivado reactivo del mismo.

2. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita por: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVAS AMLDAS.

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

Madrid 8 Enero 1.979

BERNARDO UNGRIA

F.P.

10