



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UTBM

DOMANDA NUMERO	101980900000154
Data Deposito	28/07/1980
Data Pubblicazione	28/01/1982

Titolo

COMPOSTI DI NICOTINOIL-PANTETEINA.

49359 A/80

DOI-23992C

SIB-81946

SCAMPAS-DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

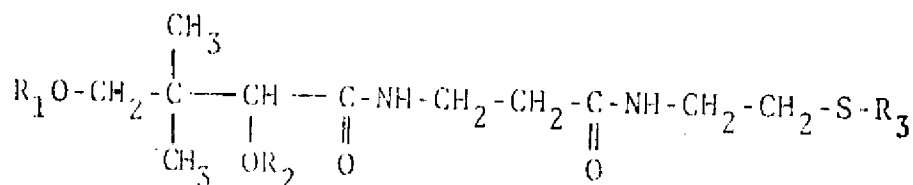
"COMPOSTI DI NICOTINOIL-PANTETEINA"

della ditta giapponese DAIICHI SEIYAKU CO., LTD.
con sede in TOKYO (GIAPPONE)

Descrizione modificata (art. 49 D.P.R. n. 338/1978) istanze dep. il 13.1.1981 " " " 17.3.1981
--

Riassunto

Vengono descritti composti utili per fornire una durata prolungata di un livello desiderato di acido nicotinico libero nel sangue senza effetti secondari sfavorevoli; i composti possono essere rappresentati dalla formula (I):



(I)

in cui R_1 , R_2 ed R_3 rappresentano ciascuno un membro scelto dal gruppo formato da un atomo di idrogeno ed un gruppo nicotinoidico, purchè almeno uno fra R_1 , R_2 ed R_3 sia un gruppo nicotinoidico, e lo ro sali di addizione con acidi non tossici.

- DESCRIZIONE -

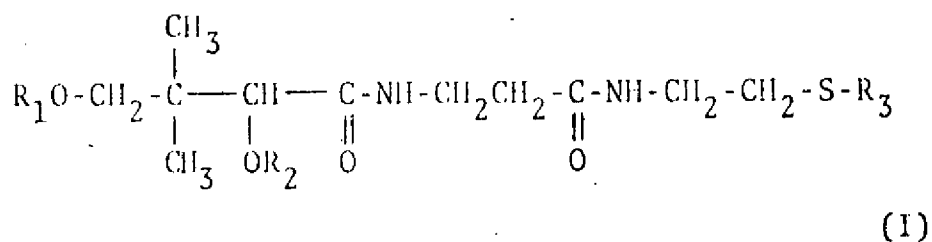
La presente invenzione si riferisce a derivati nuovi e terapeuticamente utili di nicotinoil-pantetei-
ne e loro sali di addizione con acidi, i quali forni-

scono una durata prolungata di un livello desiderato di acido nicotinico libero nel sangue.

Molti composti contenenti una o più parti nicotinoiliche sono già noti.

Per esempio, pantotenolnicotinato, il quale ha la capacità di abbassare il livello di colesterolo nel sangue, è riferito nel brevetto giapponese pubblicato 18109/65. Pentaeritritoltetranicotinato e mesoinositolesanicotinato sono descritti in *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 1859, pagina 29 (II), No. 12 (1979) di L. Harthorn e Coll.

La presente invenzione fornisce derivati di nicotinoilpanteteina rappresentati dalla formula (I):



in cui R_1 , R_2 ed R_3 rappresentano ciascuno un membro scelto dal gruppo formato da un atomo di idrogeno ed un gruppo nicotinoilico, purchè almeno uno fra R_1 , R_2 ed R_3 sia un gruppo nicotinoilico, e loro sali di addizione con acidi non tossici. Questi composti e sali di addizione con acidi non tossici (qui citati semplicemente con "composti") forniscono una durata prolunga

scono una durata prolungata di un livello desiderato di acido nicotinico libero nel sangue.

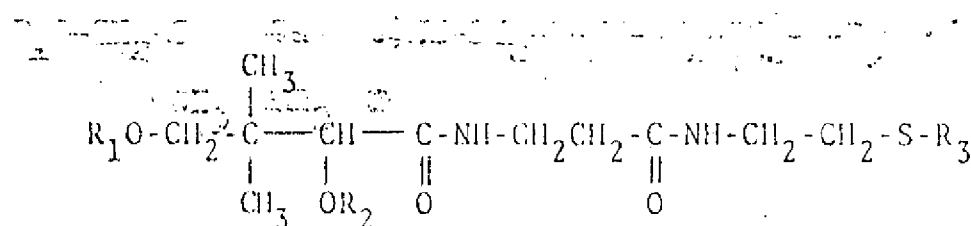
Molti composti contenenti una o più parti nicotinoiliche sono già noti.

Per esempio, pantotenilnicotinato, il quale ha la capacità di abbassare il livello di colesterolo nel sangue, è riferito nel brevetto giapponese pubblicato 18109/63. Pentaeritritoltetranicotinato e mesoinositoloesanicotinato sono descritti in Araneim.

Forsch./Drug Res., 1859, pagina 29 (II), No. 12.

(1979) di L. Harthorn e Coblentz.

La presente invenzione fornisce derivati di nicotinoilpanteteina rappresentati dalla formula (I):



(I)

in cui R_1 , R_2 ed R_3 rappresentano ciascuno un membro scelto dal gruppo formato da un atomo di idrogeno ed un gruppo nicotinoilico, purché almeno uno fra R_1 , R_2 ed R_3 sia un gruppo nicotinoilico, e loro sali di addizione con acidi non tossici. Questi composti e sali di addizione con acidi non tossici (qui citati semplicemente con "composti") forniscono una durata prolunga

17 MAR. 1981

Posilla 1

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A.

P.2.

ta di un livello desiderato di acido nicotinico libero nel sangue senza effetti secondari sfavorevoli.

In generale, è noto che l'acido nicotinico ha un effetto vasodilatatore e riduce i livelli di lipidi, quali colesterolo, trigliceridi, fosfolipidi ed acidi grassi liberi nel sangue. Tuttavia, l'acido nicotinico presenta alcuni inconvenienti per quanto riguarda l'uso per trattamento clinico. Per esempio, il livello di acido nicotinico decresce rapidamente nel sangue quando usato in dosi normali mentre in dosi più elevate provoca vari effetti secondari quali vampate al viso, prurito ed occlusione gastrointestinale. Alcuni degli effetti secondari sono provocati dal fenomeno di rimbalzo, cioè, dopo la somministrazione di acido nicotinico, il livello di acido nicotinico nel sangue raggiunge rapidamente un massimo e poi decresce in breve tempo.

Sono stati studiati vari metodi per la somministrazione di acido nicotinico. Uno dei metodi implica la somministrazione di acido nicotinico sotto forma di un preparato a messa in libertà prolungata. Un altro consiste nel somministrare un estere di acido nicotinico come farmaco precursore che, dopo l'assorbimento, viene idrolizzato per fornire acido nicotinico libero.

La presente invenzione fornisce composti disponibili per l'uso come precursori di acido nicotinico fornenti una durata prolungata di un desiderato livello di acido nicotinico libero nel sangue.

Inoltre, i composti della formula (I) hanno una attività curativa superiore per quanto riguarda disturbo del metabolismo dei lipidi e pertanto i composti possono essere utili nel trattamento di iperlipemia, arteriosclerosi, diabete, fegato grasso da alcolici e condizioni simili.

Le figure I e II dei disegni annessi mostrano livelli nel siero di acido grasso libero e trigliceridi per varie sostanze, rispettivamente.

La figura III mostra livelli di acido nicotinico nel plasma per esperimenti implicanti la somministrazione orale di acido nicotinico e di S-nicotinato.

Le figure IV, V e VI mostrano spettri infrarossi per i composti prodotti negli esempi 1, 2 e 3 rispettivamente.

Un composto rappresentativo della presente invenzione, 2,4-diidrossi-N-{2-[(2-mercapto-etil)-carbammoil]-etil}-3,3-dimetilbutirrammide S-nicotinato (qui in seguito citato semplicemente come S-nicotinato) può venire preparato mediante reazione di panteteina

con cloruro di acido nicotinico.. La reazione può ve
nire effettuata in acqua in presenza di una piccola
quantità in eccesso di idrossido alcalino (come agente
accettore di acido) rispetto a cloruro di acido
nicotinico a temperatura ambiente oppure raffreddando
con ghiaccio. Inoltre, l'aggiunta di una grande
quantità in eccesso di acido borico può promuovere prefer
ibilmente la reazione di cui sopra per ottenere un
composto fortemente puro.

Altri composti della presente invenzione possono
anche venire prodotti secondo i procedimenti analog
hi a quelli descritti sopra sebbene le condizioni
di reazione possano venire variate. Sono impiegabili
anche un blando riscaldamento ad una temperatura di
40 fino a 50°C e l'impiego di ammine terziarie organiche
come agente accettore di acido quali piridine. Se
si desidera, può venire usato un solvente organico
quale benzolo, idrocarburi alogenati ed eteri che non
influiscono sulla reazione.

Il prodotto grezzo ottenuto come sopra viene pur
ificato mediante metodi usuali, per esempio cromatogra
fia. Il composto della formula (I) può venir isolato
sotto forma di un sale di addizione con acido,
se si desidera. Inoltre, il composto (I) può venire
prodotto in una forma otticamente attiva mediante un

metodo usuale.

Composti preparati come sopra hanno attività di acido nicotinico quale mostrata nella tabella I (vedansi anche le figure I e II). Cioè, il composto rappresentativo della presente invenzione, S-nicotinato, diminuisce i livelli di siero di acidi grassi liberi e trigliceridi in ratti tanto bene quanto l'acido nicotinico. Dai risultati ottenuti risulta che S-nicotinato ha la medesima attività dell'acido nicotinico oppure che S-nicotinato viene idrolizzato nell'organismo per fornire acido nicotinico libero.

Tabella I

Livelli nel siero di acido grasso libero (FFA) e trigliceride (TG) in ratti

Parametro	Farmaco (n=6)	Tempo (min)		
		0	30	60
FFA (mEq/l)	Controllo	0.60±0.03	0.46±0.03	0.44±0.03
	Acido nicotinico		0.19±0.09*	0.12±0.01*
	S-nicotinato		0.13±0.01*	0.13±0.01*
TG (mg/dl)	Controllo	73.8±3.8	58.8±7.3	65.5±8.5
	S-nicotinato		35.0±2.3*	18.0±0.7*
			43.7±5.7	22.2±1.1*

Parametro	Farmaco (n=6)	Tempo (min)		
		90	120	360
FFA (mEq/l)	Controllo	0.30±0.02	0.30±0.02	0.46±0.05
	Acido nicotinico	0.13±0.02*	0.23±0.07	0.49±0.04
	S-nicotinato	0.15±0.03*	0.20±0.04	0.46±0.05
TG (mg/dl)	Controllo	41.0±4.8	48.0±6.3	37.3±3.4
	Acido nicotinico	21.2±2.5*	26.2±1.1*	32.5±3.1
	S-nicotinato	25.5±3.3*	29.2±1.6*	33.5±8.0

* Differenza rilevante rispetto al controllo ($p < 0,05$)

FFA : Acido grasso libero, TG: trigliceride

Acido nicotinico (20 mg/kg di peso corporeo) ed S-nicotinato (62,2 mg/kg di peso corporeo) vengono sospesi ciascuno in soluzione a 0,5% di carbossimetil-cellulosa e somministrati per via orale a ciascun gruppo di ratti in un volume di 10 ml/kg di peso corporeo (62,2 mg di S-nicotinato corrispondono a 20 mg di aci__do nicotinico in rapporto equimolare).

In corrispondenza del tempo indicato nella tabel__la I, i ratti vengono uccisi sotto l'effetto di aneste__sia da pentobarbital (30 mg/kg per via intraperitonea__le) e sangue viene prelevato dalla carotide. Il siero separato dal sangue viene saggiato nei riguardi dello acido grasso libero (secondo la variante del metodo

di Elphic) e trigliceride (secondo il metodo enzimatico).

D'altro canto, nella somministrazione orale di ciascun composto (acido nicotinico ed S-nicotinato), vengono studiati i livelli di acido nicotinico nel plasma nei ratti. I risultati sono mostrati nella tabella II e figura III. In questo esperimento, vengono impiegati ratti del ceppo SIC-SD maschi del peso tra 202 e 234 g ed il livello di acido nicotinico nel plasma viene saggiato mediante cromatografia in liquido a velocità elevata. Le altre condizioni sono uguali a quelle dell'esperimento nominato sopra.

Tabella II

	<u>30 min</u>	<u>60 min.</u>	<u>90 min</u>	<u>120 min</u>	<u>360 min</u>
Acido nicotinico	42,8 <u>±</u> 1,2	22,2 <u>±</u> 1,6	6,7 <u>±</u> 1,6	0,4 <u>±</u> 0,3	0 <u>±</u> 0
S-nicotinato	5,2 <u>±</u> 0,3	3,3 <u>±</u> 0,3	0,7 <u>±</u> 0,4	0 <u>±</u> 0	0 <u>±</u> 0

($\mu\text{g/ml}$)

Dalla tabella II e figura III risulta che i livelli di acidi nicotinico nel plasma ottenuti con S-nicotinato sono costantemente inferiori a quelli ottenuti con acido nicotinico, specialmente dopo 30 minuti dalla somministrazione orale. Tuttavia, in entrambi i casi, dopo 120 minuti dalla somministrazione orale, l'acido nicotinico nel plasma praticamente scompare. In altre parole, confrontato con

S-nicotinate, l'acido nicotinico produce un rimbalzo di gran lunga maggiore nel livello di acido nicotinico nel plasma.

Viene effettuato un altro esperimento impiegando 10 mg/kg di peso corporeo di acido nicotinico. Come risultato dell'esperimento, il livello di acido nicotinico nel plasma che si ottiene con 10 mg/kg di acido nicotinico raggiunge un livello massimo (8,3 µg/ml in questo caso) dopo 30 minuti dalla somministrazione così come i risultati ottenuti con 20 mg/kg di acido nicotinico. Ma, dopo 60 minuti, il livello è solo una quantità in tracce eppure non è rilevabile. In breve, mentre la dose inferiore di acido nicotinico dà come risultato un livello massimo inferiore ed una scomparsa più rapida di esso, la dose inferiore può essere priva degli effetti secondari prodotti dal fenomeno di rimbalzo. Tuttavia, l'effetto sarà debole e di breve durata.

La durata del livello di acido nicotinico ottenuta con il composto (I) è più lunga di quella ottenuta con acido nicotinico libero in una quantità che potrebbe venire usata per realizzare i medesimi valori massimi di livelli di acido nicotinico nel plasma.

Inoltre, gli effetti di S-nicotinato vengono confermati da un esperimento che impiega ratti con

fegato grasso alcolico che sono stati preparati secondo il metodo descritto da A. Hosein e Coll., Biochemical Pharmacology, Vol. 24, pagine 1859, 1975.

In questo esperimento, ratti Sprague-Dawley maschi dell'età di 6 settimane, vengono trattati come segue. I ratti ricevono 10 ml di soluzione etanolica a 40% per kg di peso corporeo per 3 giorni (a 10:00 A.M. il giorno della morte ed a 4 :00 P.M. gli altri giorni) mediante intubazione gastriga. S-nicotinato viene sospeso in soluzione acquosa a 0,5 (volume/volume) % di Tween 80 (derivato poliossietilenico di monoleato di sorbitano) e somministrato per 5 giorni (a 9:00 A.M.) compreso il giorno del sacrificio. Dopo il sacrificio dei ratti (ad 1:00 P.M.) viene misurato il colesterolo totale secondo il metodo di Bennie Zak (American Journal of Pathology, vol. 27, pagina 583, 1957) e l'acido grasso libero viene misurato mediante il metodo descritto da K. Itaya e Collaboratori, Journal of Lipid Research, Vol. 6, pagina 16, 1965.

I risultati sperimentali sono mostrati nella tabella III.

fegato grasso alcolico che sono stati preparati secondo il metodo descritto da A. Hosein e Coll.,

Biochemical Pharmacology, Vol. 24, pagine 1859, 1975.

In questo esperimento, ratti ^{Posilla 2} Sprague-Dawley maschi dell'età di 6 settimane, vengono trattati come segue. SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A. ^{17 MAR. 1981}
I ratti ricevono 10 ml di soluzione etanolica a 40% per kg di peso corporeo per 3 giorni (a 10:00 A.M. il giorno della morte ed a 4:00 P.M. gli altri giorni) mediante intubazione gastrica. S-nicotinato viene sospeso in soluzione acquosa a 0,5 (volume/volume) % di Tween 80 (derivato poliossietilenico di monoleato di sorbitano) e somministrato per 5 giorni (a 9:00 A.M.) compreso il giorno del sacrificio. Dopo il sacrificio dei ratti (ad 1:00 P.M.) viene misurato il colesterolo totale secondo il metodo di Bennie Zak (American Journal of Pathology, vol. 27, pagina 583, 1957) e ^{17 MAR. 1981} Posilla 3
l'acido grasso libero viene misurato mediante il metodo descritto da K. Itaya e Collaboratori, Journal of Lipid Research, Vol. 6, pagina 16, 1965. SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A. ^{17 MAR. 1981} Posilla 3

I risultati sperimentali sono mostrati nella tabella III.

Tabella III

Gruppo (n=6)	Dose (mg/kg/giorno)	Colesterolo nel siero (mg/dl)	Acidi grassi liberi nel siero (μ Eq/l)
Controllo	0	99,6 $\pm$ 4,80	313 $\pm$ 46,25
S-nicotinato	76,7 (0,1 mmoli/kg/ giorno)	79,0 $\pm$ 4,23	236 $\pm$ 21,33

Dal risultato di cui sopra è chiaro che i composti della presente invenzione hanno un effetto superiore nel diminuire sia il livello di colesterolo nel siero che il livello di acidi grassi liberi nel siero.

La tossicità acuta (DL_{50}) di S-nicotinato è mostrata nella tabella IV.

Tabella IV

Tossicità acuta di S-nicotinato in topi

Via	Sesso	DL_{50} (mg/kg)
P.O.	maschi (n=10)	>10.000
	femmine (n=10)	>10.000
I.V.		1.600

P.O. = Somministrazione orale

I.V. = Somministrazione endovenosa

Tabella III

Gruppo (n=6)	Dose	Colesterolo nel siero	Acidi grassi liberi nel siero
	(mg/kg/giorno)	(mg/dl)	(μ Eq/l)
Controllo	0	99,6 $\pm$ 4,80	313 $\pm$ 46,25
S-nicotinato	76,7 (0,1 mmoli/kg/ giorno)	79,0 $\pm$ 4,23	236 $\pm$ 21,33

pagina 4

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A.

P.2.

Dal risultato di cui sopra è chiaro che i composti della presente invenzione hanno un effetto superiore nel diminuire sia il livello di colesterolo nel siero che il livello di acidi grassi liberi nel siero.

17 MAR. 1981

La tossicità acuta (DL_{50}) di S-nicotinato è mostrata nella tabella IV.

Tabella IV

Tossicità acuta di S-nicotinato in topi

Via	Sesso	DL_{50} (mg/kg)
P.O.	maschi (n=10)	>10.000
	femmine (n=10)	>10.000
I.V.		1.600

P.O. = Somministrazione orale

I.V. = Somministrazione endovenosa

La prova di tossicità acuta viene effettuata come segue. Vengono usati topi del ceppo di ddY, maschi del peso di 17,2 fino a 20,5 g e femmine del peso di 17,5 fino a 19,7 g. I topi vengono alimentati con foderaggio ed acqua liberamente e mantenuti in condizioni ambiente costanti (temperatura $23 \pm 1^\circ\text{C}$, umidità relativa $55 \pm 5\%$ e luce per 12 ore) prima della prova. I campioni, soluzioni in acqua di S-nicotinato (0,3 ml/10 g di peso corporeo) vengono somministrati a ciascun gruppo (n=10) di topi così da venire somministrati in quantità di 5 g/kg e 10 g/kg, rispettivamente.

Una settimana dopo la somministrazione tutti i topi vengono confermati vivi senza alcuna eccezione.

Pertanto, questi composti e loro sali di addizione con acidi farmacologicamente accettabili sono disponibili per il miglioramento del metabolismo dei lipidi e possono venire preparati sotto forma di capsule, compresse, polvere od iniezioni a seconda della maniera di procedimenti di preparazione noti. Inoltre, sarà efficace somministrare il composto in una quantità di 200 fino a 2000 mg/giorno per un essere umano.

La presente invenzione è illustrata ulteriormente dagli esempi che seguono che non debbono venire pe-

rò considerati limitanti l'invenzione medesima.

Esempio 1

5,70 g di panteteina vengono sciolti in 50 ml di soluzione mista di acido borico 1M e cloruro di potassio 1M. Il pH della soluzione di panteteina ottenuta viene regolato a 9,0 mediante l'aggiunta di soluzione 1N di NaOH. Poi alla soluzione vengono aggiunti gradualmente 10,95 g di cloridrato cloruro di acido nicotinico mentre si continua l'agitamento ed il raffreddamento con ghiaccio per 3,5 ore. La reazione viene effettuata a pH 8,7-9,0 tutte le volte mediante aggiunta di soluzione 1N di NaOH al sistema di reazione.

Dopo la reazione, la soluzione di reazione viene regolata a pH 6 mediante l'aggiunta di 5% di acido cloridrico e viene estratta con etilacetato. La soluzione estratta viene lavata con soluzione di bicarbonato di sodio e poi con acqua. Dopo l'essiccamento della soluzione estratta, il solvente viene evaporato. Il residuo ottenuto viene applicato ad una colonna cromatografica costituita da 300 g di gel di silice e la eluizione viene effettuata con cloroformio/metanolo (15:1 in volume) per dare 2,51 g di 2,4-diidrossi-N{-2[(2-mercaptoetil)-carbammoil]-etil}-3,3-dimetilbutirrammide S-nicotinato come prodotto oleoso

incolore.

Analisi elementare per $C_{17}H_{25}N_3O_5S$:

Calcolato: C, 53.25; H, 6.57; N, 10.96; S, 8.36

Trovato : C, 53.23; H, 6.70; N, 10.56; S, 8.25

Spettri IR (Metodo con pellicola di liquido): mostrato in figura IV

Spettri NMR:

$\delta_{TMS}^{CD_3COCD_3}$: 0.90 (3H, s), 0.96 (3H, s),
2.49 (2H, t, 6.7Hz), 3.45 (8H, m),
4.00 (1H, ampio), 4.40 (1H, ampio),
5.14 (1H, m), 7.62 (1H, d, d, 8.1Hz,
5.0Hz), 7.80 (2H, m), 8.34 (1H, d, t,
8.1Hz, 2.1Hz), 8.89 (1H, d, d, 5.0Hz,
2.1Hz), 9.17 (1H, d, 2.1Hz)

Spettrometro di massa a desorbimento di campo:

Esempio 2

$m/e = 384 (M+1)^+$

13 GEN. 1981

Pavillo

1,08 g di 2,4-diidrossi-N-{2-[(2-mercaptoetil)-
carbammil]-etil}-3,3-dimetilbutirroammide S-nicotina

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A.

12

to preparato nella medesima maniera dell'esempio 1
vengono sciolti in 15 ml di piridina. Poi alla solu-
zione vengono aggiunti 0,75 g di cloridrato di cloru-
ro di acido nicotinico riscaldando a 45-50°C per 2 ore,
agitando. Dopo il raffreddamento della soluzione di
reazione, i precipitati vengono separati via median-
te filtrazione. Il filtrato ottenuto viene aggiunto

incolore.

Analisi elementare $C_{17}H_{25}N_3O_5S$:

Calcolato: C, 53.25; H, 6.57; N, 10.96; S, 8.36

Trovato : C, 53.23; H, 6.70; N, 10.56; S, 8.25

Spettri IR (Metodo con pellicola di liquido): mostrato in figura IV

Spettri NMR:

$\delta_{TMS}^{CH_3COCl_3}$: 0.90 (3H, s), 0.96 (3H, s),
2.49 (2H, t, 6.7Hz), 3.45 (8H, m),
4.00 (1H, ampio), 4.40 (1H, ampio),
5.14 (1H, m), 7.62 (1H, d, d, 8.1Hz,
5.0Hz), 7.80 (2H, m), 8.34 (1H, d, t,
8.1Hz, 2.1Hz), 8.89 (1H, d, d, 5.0Hz,
2.1Hz), 9.17 (1H, d, 2.1Hz)

Spettrometro di massa a desorbimento di campo:

Esempio 2 $m/e = 384 (M+1)^+$

1,08 g di 2,4-diidrossi-N-{2-[(2-mercaptoetil)-carbammidil]-etil}-3,3-dimetilbutirroammide S-nicotina
to preparato nella medesima maniera dell'esempio 1
vengono sciolti in 15 ml di piridina. Poi alla soluzione vengono aggiunti 0,75 g di cloridrato di cloruro di acido nicotinico riscaldando a 45-50°C per 2 ore, agitando. Dopo il raffreddamento della soluzione di reazione, i precipitati vengono separati mediante filtrazione. Il filtrato ottenuto viene aggiunto

a 50 ml di soluzione al 5% del bicarbonato di sodio ed estratto con etilacetato. La soluzione estratta viene lavata con acqua, essiccata ed il solvente viene evaporato per dare un residuo contenente il composto desiderato. Il residuo viene posto su una colonna cromatografica costituita da gel di silice e la eluzione viene effettuata con un solvente di sviluppo di cloroformio-metanolo (12:1 volume/volume) per dare 0,46 g di 2,4-diidrossi-N- {2-[(2-mercaptoetil)-carbammoil]-etil}-3,3-dimetilbutirroammide 4-S-dinicotinato come prodotto oleoso incolore.

Analisi elementare per $C_{23}H_{28}N_4O_6S$:

Calcolato: C, 56.54; H, 5.78; N, 11.47; S, 6.56

Trovato : C, 56.77; H, 5.89; N, 11.63; S, 6.41

Spettri IR (metodo con pellicola liquida): mostrati in figura V

Spettri NMR:

$\delta_{TMS}^{CD_3COCD_3}$: 1.10 (3H, s), 1.15 (3H, s), 2.50 (2H, t, 6.7Hz), 3.50 (6H, m), 4.14 (1H, s), 4.33 (2H, s), 5.40 (1H, ampio), 7.70 (4H, m), 8.35 (2H, m), 8.85 (2H, m), 9.13 (1H, d, 2.2Hz), 9.22 (1H, d, 2.2Hz)

Esempio 3

Ad una soluzione di 2,90 g di panteteina e 60 ml

di piridina vengono aggiunti 8,40g di cloridrato di cloruro di acido nicotinico. La soluzione viene riscaldata a 45 fino a 50°C per 2-3 ore, agitando. Dopo che il miscuglio di reazione si è raffreddato, i precipitati cristallini vengono separati mediante filtrazione ed il filtrato viene versato in 300 ml di soluzione al 5% di bicarbonato di sodio. La soluzione viene poi estratta con etilacetato. La soluzione estratta ottenuta viene lavata con acqua, essiccata ed il solvente viene evaporato per ottenere un residuo. Il residuo viene posto su una colonna cromatografica costituita da 200 g di gel di silice e la eluizione viene effettuata con un solvente di sviluppo di cloroformio-metanolo (15:1 volume/volume) per ottenere 5,05 g di 2,4-diidrossi-N{-2-[(2-mercaptoetil)-carbammoil]-etil}-3,3^V-dimetossibutirrammide-2,4-S-trinicotinato come polvere incolore.

17 MAR. 1981

Posilla 5

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A.

P.2.

Analisi elementare $C_{29}H_{31}N_5O_7S$:

Calcolato: C, 58.67; H, 5.26; N, 11.80; S, 5.40

Trovato: C, 58.24; H, 5.17; N, 11.47; S, 5.18

Spettri IR (metodo con compressa di KBr): mostrati in figura VI.

di piridina vengono aggiunti 8,40g di cloridrato di cloruro di acido nicotinico. La soluzione viene riscaldata a 45 fino a 50°C per 2-3 ore, agitando. Dopo che il miscuglio di reazione si è raffreddato, i precipitati cristallini vengono separati via mediante filtrazione ed il filtrato viene versato in 300 ml di soluzione al 5% di bicarbonato di sodio. La soluzione viene poi estratta con etilacetato. La soluzione estratta ottenuta viene lavata con acqua, essiccata ed il solvente viene evaporato per ottenere un residuo. Il residuo viene posto su una colonna cromatografica costituita da 200 g di gel di silice e la eluizione viene effettuata con un solvente di sviluppo di cloroformio-metanolo (15:1 volume/volume) per ottenere 5,05 g di 2,4-diidrossi-N{2-[(2-mercaptoetil)-carbammoil]-etil}-3,3-dimetossibutirrammide 2,4-S-trinicotinato come polvere incolora.

Analisi elementare $C_{29}H_{31}N_5O_7S$:

Calcolato: C, 58.67; H, 5.26; N, 11.80; S, 5.40

Trovato: C, 58.24; H, 5.17; N, 11.47; S, 5.18

Spettri IR (metodo con compressa di KBr): mostrati in figura VI.

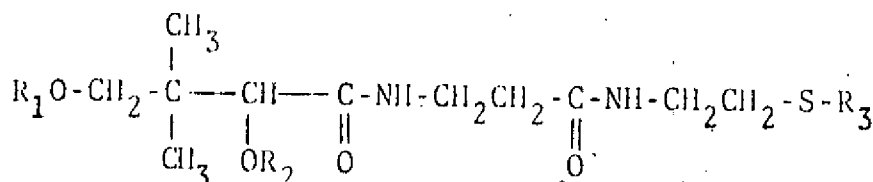
Spettri NMR:

$\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$: 1.30 (6H, s), 2.44 (2H, t, 6.0Hz),
 3.40 (6H, m), 4.39 (2H, s), 5.37 (1H, s),
 7.00 (1H, m), 7.30-7.75 (1H, ,
 7.46 (3H, d, d, 8.1Hz, 5.2Hz), 8.30 (3H, m),
 8.86 (3H, m), 9.20 (1H, d, 2.2Hz), 9.40 (1H,
 d, 2.2Hz), 9.47 (1H, d, 2.2Hz)

Spettrometria di massa con desorbimento di campo: $m/e=594 (M+1)^+$

- RIVENDICAZIONI -

1. Composto rappresentato dalla formula:



in cui R_1 , R_2 ed R_3 rappresentano ciascuno un membro scelto dal gruppo formato da un atomo di idrogeno ed un gruppo nicotinoilico, purchè almeno uno fra R_1 , R_2 ed R_3 sia un gruppo nicotinoilico, e suoi sali di addizione con acidi non tossici.

2. 2,4-diidrossi-N{2[(2-mercaptoetil)-carbammoil]-etil}-3,3-dimetilbutirrammide S-nicotinato.

p.p. DAIICHI SEIYAKU CO., LTD.

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI
 CAVATTONI, DE BENEDETTI, OMODEO, SALE s.a.s.

Allegato A

Rettifiche alla descrizione della domanda di brevetto n. 49359A/80 a nome di DAIICHI SEIYAKU CO., LTD. contenute in n. 1 postille, richieste con istanza depositata il

13 GEN. 1981

Postilla: pagina 14 fra le righe 16 e 17 inserire quanto segue:

"Il composto in oggetto, 2,4-diidrossi-N-{2-[(2-mercaptoetil)-carbammoil]-etil}-3,3-dimetilbutirroammide-S-nicotinato come sostanza oleosa incolore ottenuta nell'esempio 1 dà cristalli ad aghi incolori nel venir lasciato a riposo. A seguito di ricristallizzazione del composto da acetato etilico come solvente per la ricristallizzazione usando gli aghi incolori ottenuti sopra come cristalli di seme, si ottengono aghi incolori aventi un punto di fusione di 86-88°C. I dati dello spettro NMR e lo spettro IR dei cristalli risultanti vengono riscontrati essere conformi a quelli del composto come sostanza oleosa."

p.p. DAIICHI SEIYAKU CO., LTD.

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI



ALLEGATO B

Rettifiche alla descrizione della domanda di brevetto n° 49 359 A/80 a nome di DAIICHI SIYAKU CO., LTD. contenute in n° 5 postille, richieste con istanza depositata il 17 MAR. 1981

Postilla 1: pag. 2, riga 10: anzichè "1859, pagina 29(II)" scrivere "pagina 1859, vol. 29(II)"

Postilla 2: pag. 10, riga 4: scrivere "Spragve-Dawly" scrivere "Spagve-Dawley"

Postilla 3: pag. 10, riga 16: anzichè "Pathology" scrivere "Clinical Pathology"

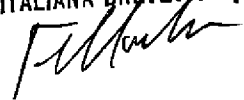
Postilla 4: pag. 11, riga 7 tabella III: anzichè "0,1 mmoli" scrivere "0,2 mmoli"

Postilla 5: pag. 16, anzichè "dimetossibutirrammide" scrivere "dimetilbutirrammide"

p.p. DAIICHI SIYAHY CO., LTD.

17 MAR. 1981

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A.



Allegato A

Rettifiche alla descrizione della domanda di brevetto n. 49359A/80 a nome di DAIICHI SEIYAKU CO., LTD. contenute in n. 1 postille, richieste con istanza depositata il

13 GEN. 1981

Postilla: pagina 14 fra le righe 16 e 17 inserire

quanto segue:

"Il composto in oggetto, 2,4-diidrossi-N-{2-[(2-mercaptoetil)-carbammol]-etil}-3,3-dimetilbutirroamide-S-nicotinato come sostanza oleosa incolore ottenuta nell'esempio 1 dà cristalli ad aghi incolori nel venir lasciato a riposo. A seguito di ricristallizzazione del composto da acetato etilico come solvente per la ricristallizzazione usando gli aghi incolori ottenuti sopra come cristalli di seme, si ottengono aghi incolori aventi un punto di fusione di 86-88°C. I dati dello spettro NMR e lo spettro IR dei cristalli risultanti vengono riscontrati essere conformi a quelli del composto come sostanza oleosa."

p.p. DAIICHI SEIYAKU CO., LTD.

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI



ALLEGATO B

Rettifiche alla descrizione della domanda di brevetto n° 49 359 A/80 a nome di DAIICHI SIYAKU CO., LTD. contenute in n° 5 postille, richieste con istanza depositata il **17 MAR. 1981**

Postilla 1: pag. 2, riga 10: anzichè "1859, pagina 29(II)" scrivere "pagina 1859, vol. 29(II)"

Postilla 2: pag. 10, riga 4: scrivere "Spragve-Dawly" scrivere "Spagve-Dawley"

Postilla 3: pag. 10, riga 16: anzichè "Pathology" scrivere "Clinical Pathology"

Postilla 4: pag. 11, riga 7 tabella III: anzichè "0,1 mmoli" scrivere "0,2 mmoli"

Postilla 5: pag. 16, anzichè "dimetossibutirrammide" scrivere "dimetilbutirrammide"

p.p. DAIICHI SIYAKU CO., LTD.

17 MAR. 1981
SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI S.p.A.



PTA

ent

49359 A/80

Figura I

Livello di acido grasso libero nel siero

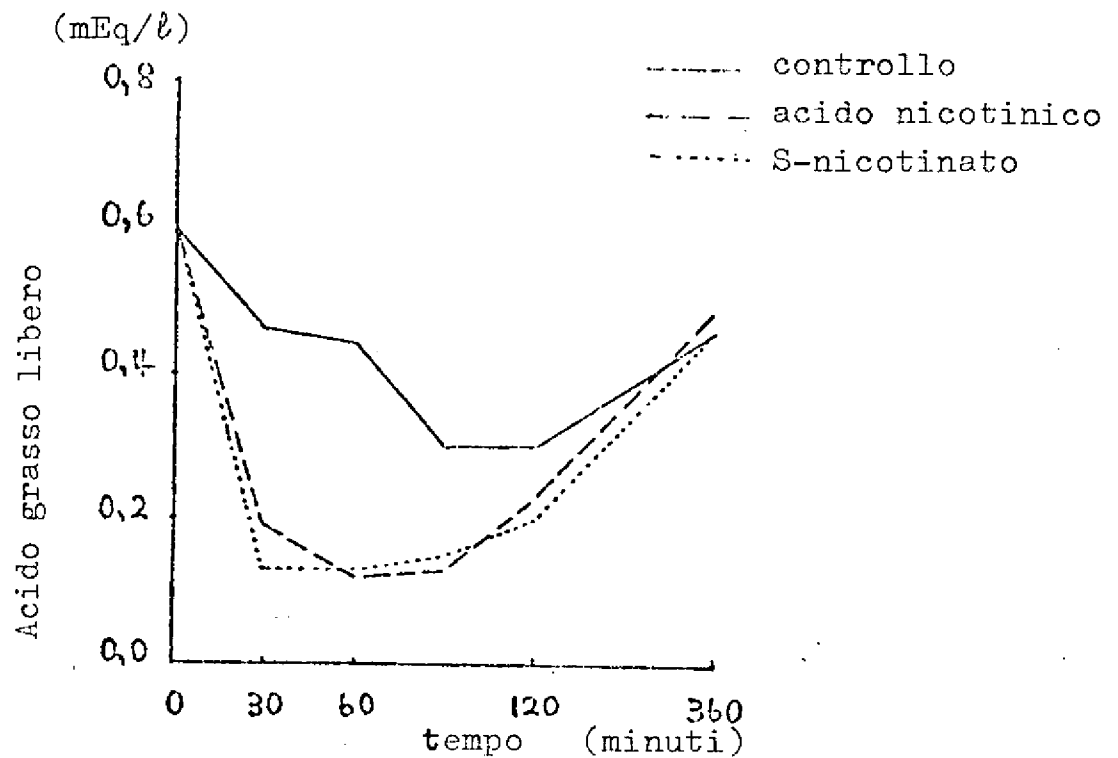
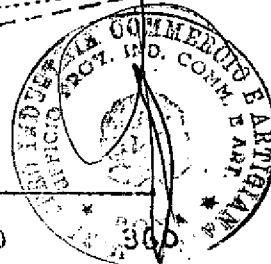
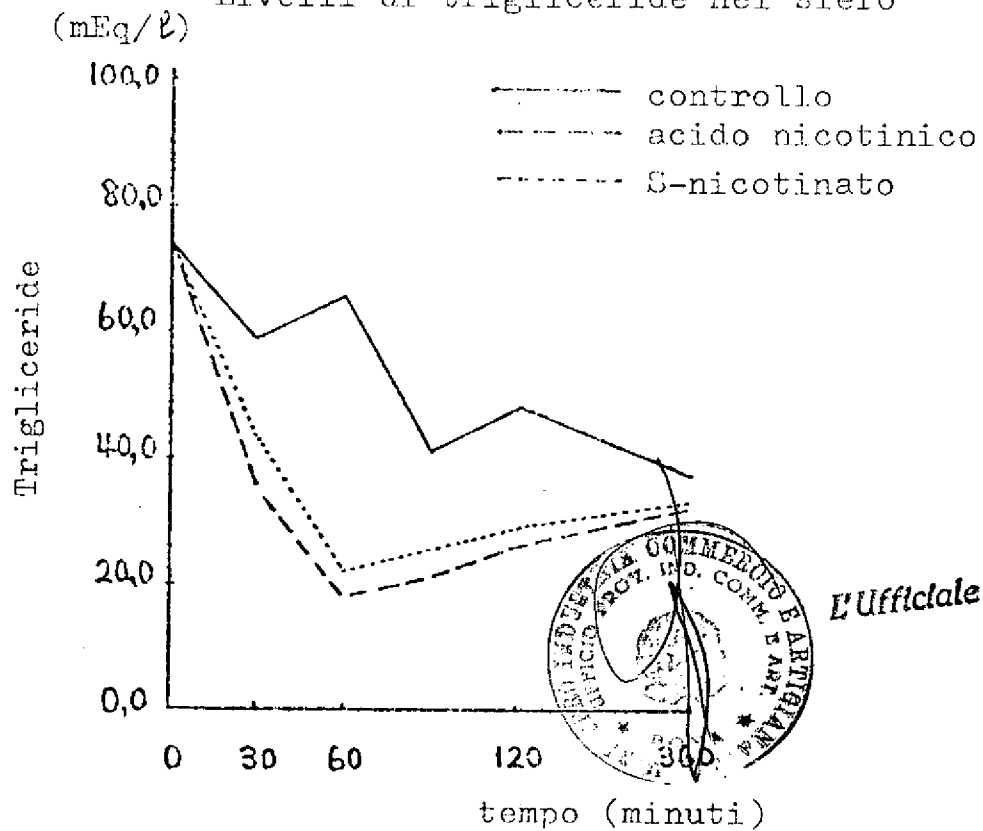


Figura II

Livelli di trigliceride nel siero



L'Ufficiale Registrante

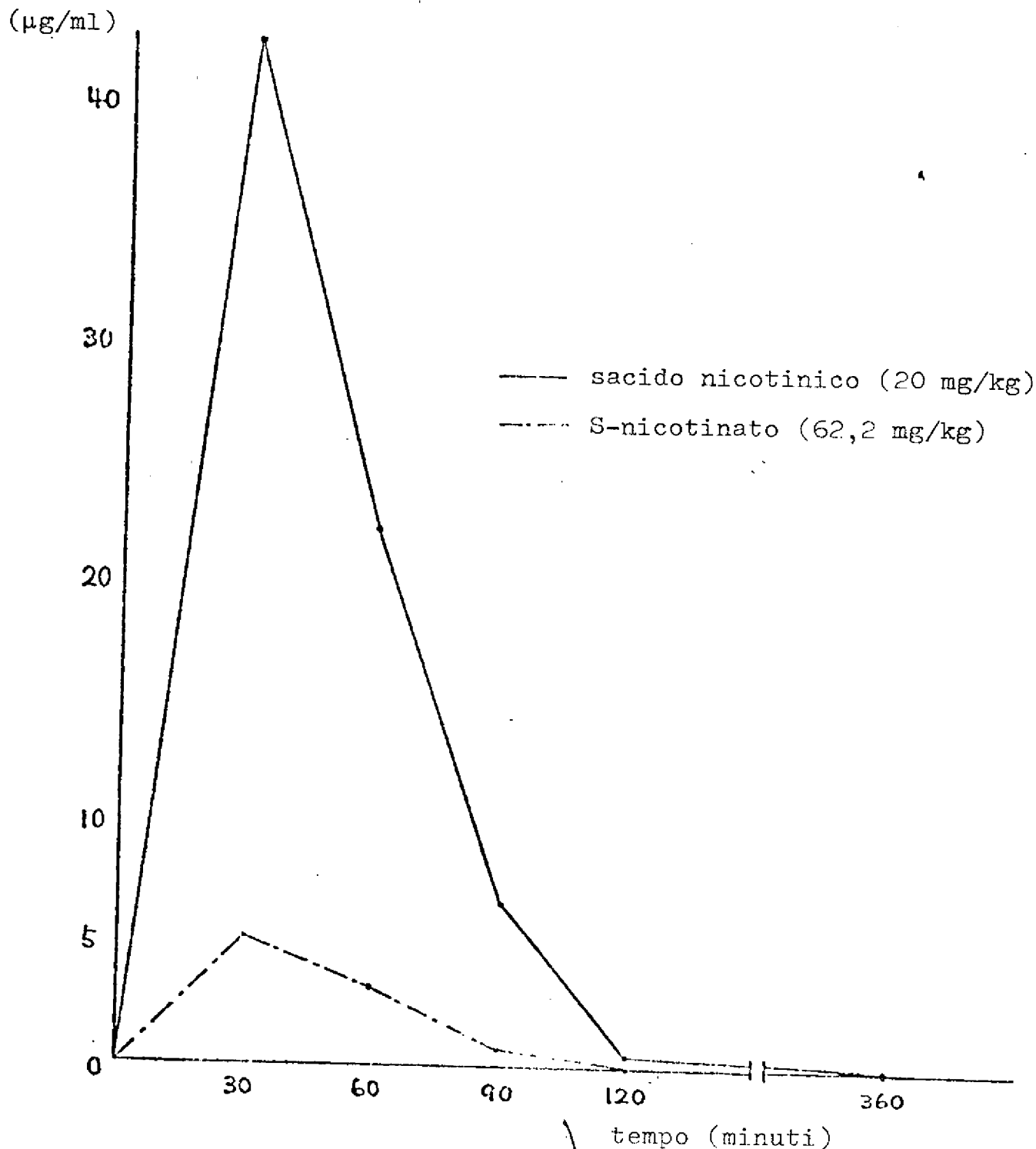
f.f. Danichi Seiyoku Co. Ltd.

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI
CAVATTONI, DE GENNETTI, OMIDIO, SALE S.p.A.

49350 A/80

Figura III

Livelli di acido nicotinico nel plasma



Ufficiale Registrato

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI
CAVATTONI, DE BENEDETTI, ORIO, SALE

J. P. Daiichi Sengoku Co. Ltd.

49350A/80

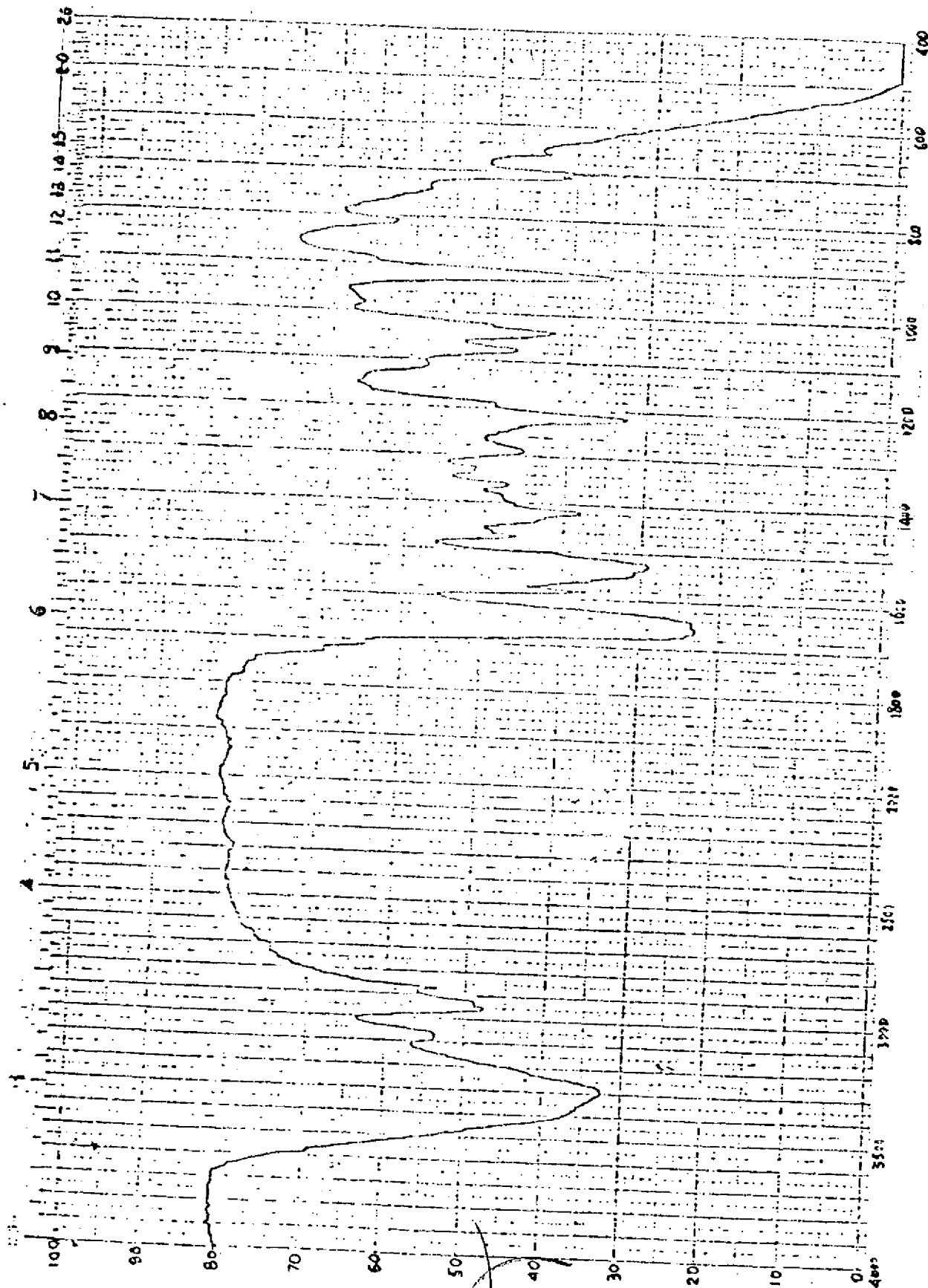


Figura IV

ff. Daichi Seiyaku Co. Ltd.

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI
CAVATTONI, DE BENEDETTI, COMPAGNIE, SALÉ & C.

49350 A/80

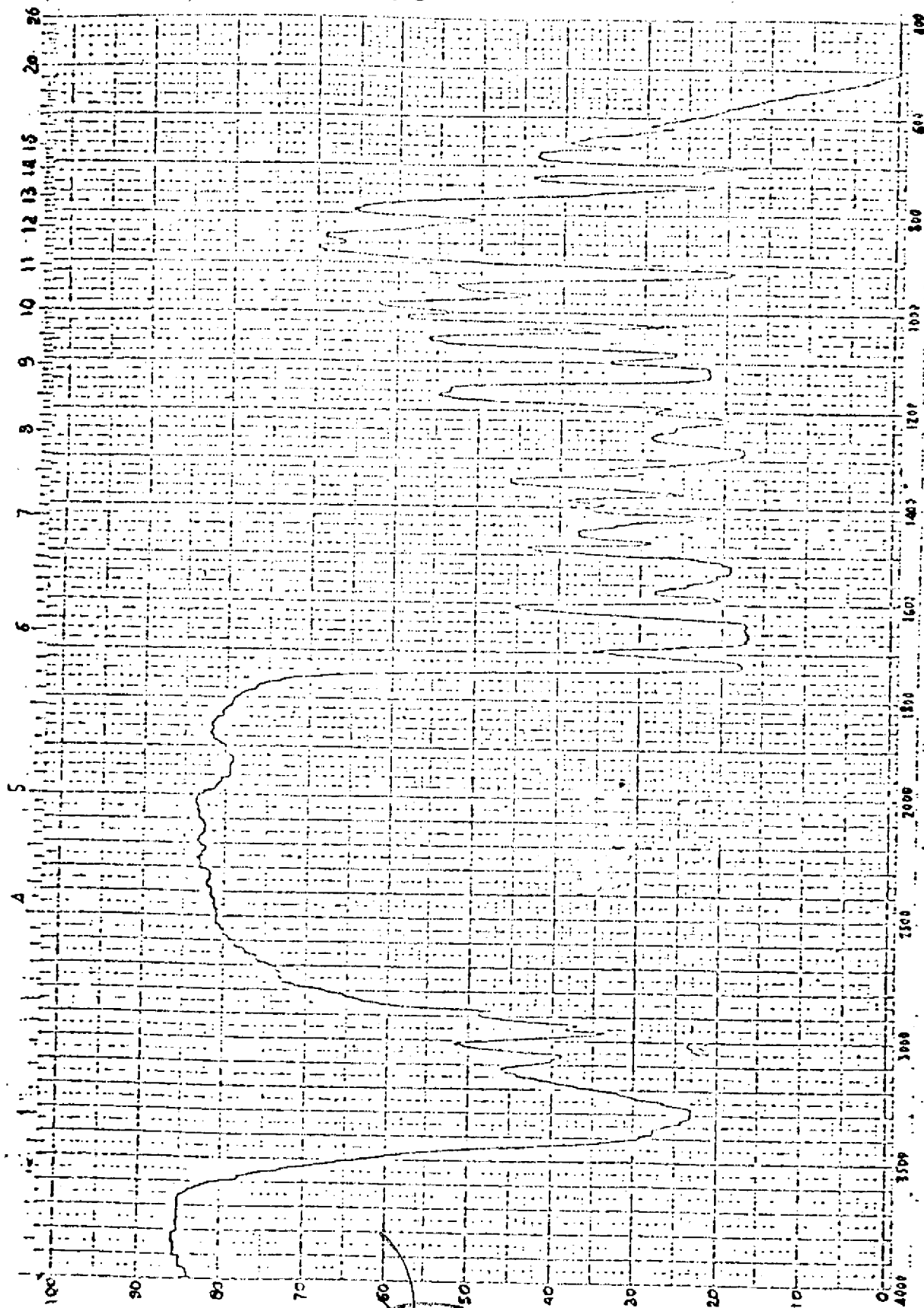


Figura V

p.p. Dainichi Seiyaku Co. Ltd.

SOCIETÀ ITALIANA BREVETTI
CAVATTONI, DE BENEDETTI, SMOLE, SALE S.p.A.
[Signature]

49350 A/80

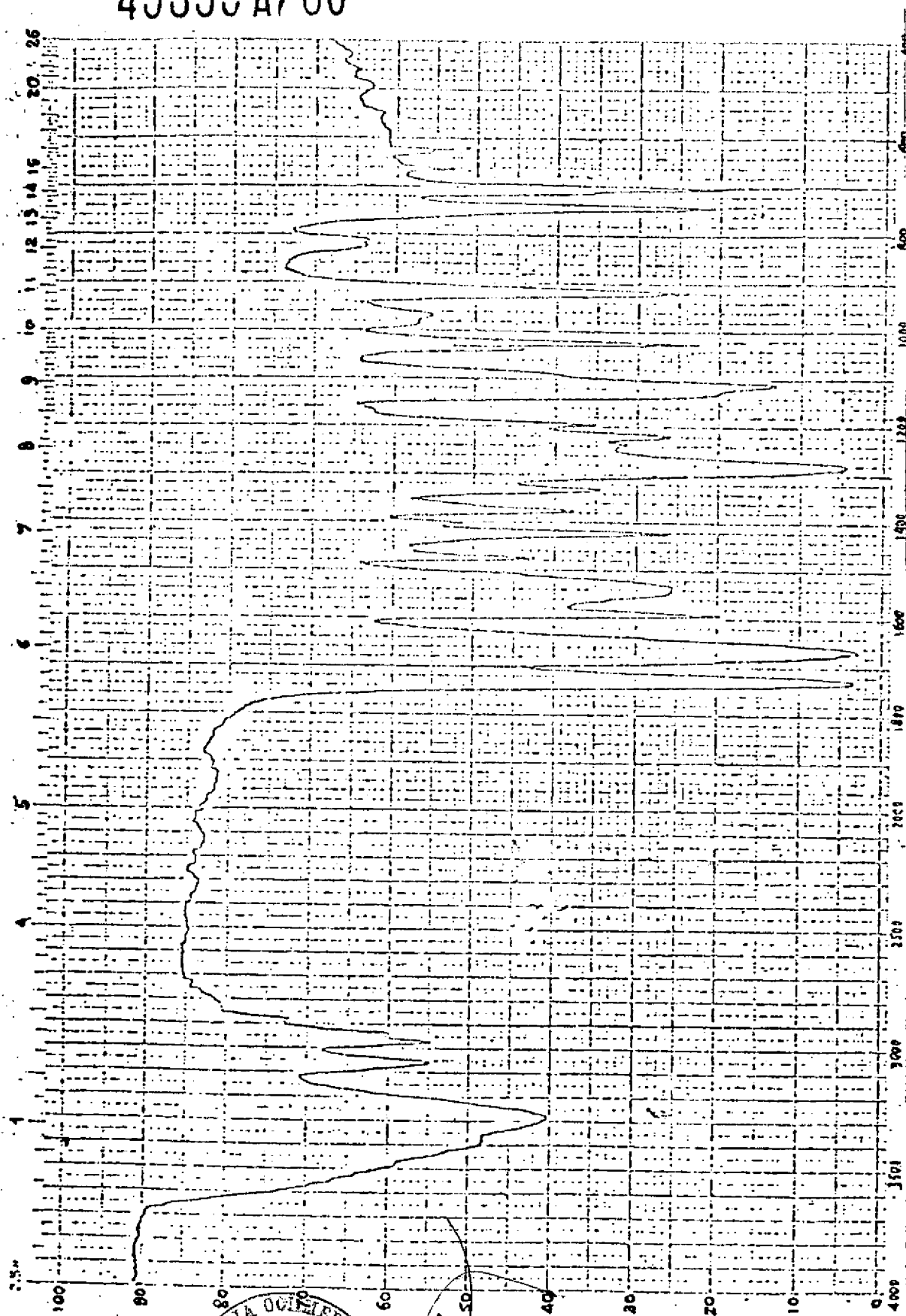
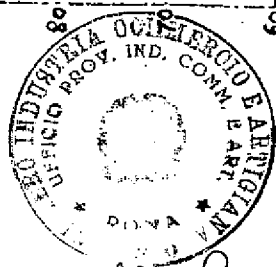


Figura VI



L'Ufficiale, Rocante

SOCIETÀ ITALIANA DI VETRI
CAVATTONI, DE BONTI, DI NINO, S. L. S. R. L.

Prof. Daiichi Seiyaku Co. Ltd.