

Int. Cl.<sup>2</sup>: C07C11A61K

22



405105

405105

## MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un...a

### PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

RESIDENCIA: 2200 University Avenue, BERKELEY,

California, Estados Unidos.

ENUNCIADO: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 2,6,6-trimetil-1-(10'-carboxi-3', 7'-dimetil-deca-1',3',5',7',9'-pentaenil)-ciclohex-1-eno o una sal del mismo.

Prioridad: Patente ..... n.º ..... del .....



405105

1           Esta invención se refiere al homólogo superior del ácido retinoico que contiene 22 átomos de carbono.

5           La inflamación y la síntesis de mucopolisacáridos son dos factores importantes en las fases iniciales de la cicatrización de heridas. La palabra "herida" en el sentido utilizado en esta memoria significa cualquier lesión tópica como una incisión quirúrgica, herida accidental o úlcera. Es conocido el uso del ácido retinoico (la forma ácida de la vitamina A) y sus sales en la promoción de la cicatrización de las heridas. Estos compuestos son especialmente útiles en el tratamiento de pacientes que han sido tratados, por ejemplo, con agentes anti-inflamatorios como salicilato sódico o prednisona o a los que se ha aplicado tópicamente ácido salicílico o hidrocortisona. Se sabe que estos agentes inhiben la cicatrización de las heridas y cuando se aplica ácido retinoico o una sal del mismo, puede invertirse el retraso de la cicatrización.

15           Ahora se ha encontrado que el nuevo compuesto 2,6,6-trimetil-1-(10'-carboxi-3',7'-dimetil-deca-1',3',5',7',9'-pentaenil)-ciclohex-1-eno (es decir, el homólogo del ácido retinoico que contiene 22 átomos de carbono) y sus sales son incluso más eficaces que el ácido retinoico (y que el homólogo del ácido retinoico que contiene 24 átomos de carbono) en la promoción de la cicatrización de las heridas. La sal utilizada puede ser cualquier sal metálica fisiológicamente aceptable. (En adelante, el 2,6,6-trimetil-1-(10'-carboxi-3',7'-dimetil-deca-1',3',5',7',9'-pentaenil)-ciclohex-1-eno será denominado ácido C-22 para mayor brevedad).

25           El ácido C-22 y sus sales son especialmente útiles para la aplicación tópica a las heridas de los pacientes a

30

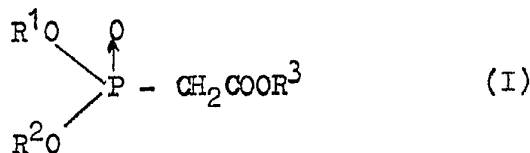


405105

1 los que se ha administrado una droga que ejerce un efecto  
retardante en la cicatrización de las heridas, por ejemplo  
las mencionadas anteriormente. La hidrocortisona, la pred-  
nisona y el ácido salicílico son empleados comúnmente; por  
5 ejemplo, la prednisona es un análogo sintético de la corti-  
sona y se utiliza por vía oral en el tratamiento de una am-  
plia variedad de enfermedades. Se usa y no con poca frecuen-  
cia en pacientes quirúrgicos para reducir los edemas o in-  
flamaciones. Los corticosteroides son utilizados en la ciru-  
10 gía de transplante de órganos para suprimir la respuesta  
inmunológica. El salicilato sódico ha sido empleado en la  
terapia sintomática de la fiebre reumática aguda. Sin embar-  
go, los salicilatos, la hidrocortisona, la prednisona, la  
indometacina y el ácido mefenámico retrasan la cicatriza-  
15 ción. La acción retardante de estas drogas puede ser inver-  
tida aplicando ácido C-22 o sus sales a la herida.

El ácido C-22 o sus sales pueden ser preparados ha-  
ciendo reaccionar retinal con un compuesto de fórmula:

20



25

30

[donde cada uno de los grupos R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup>, que pueden ser  
iguales o diferentes, representan un grupo alquilo (v.g. al-  
quilo C<sub>1-3</sub>, especialmente alquilo C<sub>1</sub> o C<sub>2</sub>) o un grupo arilo  
(v.g. fenilo)] en presencia de un hidruro de metal alcalino  
e hidrolizando, por ejemplo con hidróxido potásico alcohóli-  
co, el éster así obtenido. La reacción con retinal es una mo-  
dificación de la clásica reacción de Wittig. Si el producto

405105



1 de la hidrólisis es una sal, si se desea puede ser acidula-  
do para dar el ácido libre o puede ser convertido en otra  
sal. Si el producto de la hidrólisis es el ácido, si se de-  
sea puede ser convertido en la sal del mismo. Por ejemplo,  
5 generalmente se hace reaccionar el retinal con un fosfonoaceta-  
tato de tri(alquilo C<sub>1</sub> o C<sub>2</sub>) debido a su mayor disponibili-  
dad y facilidad de purificación (habitualmente fosfonoaceta-  
to de trietilo), en presencia de un hidruro de metal alcali-  
no (generalmente hidruro sódico).

10 El retinal, el hidruro de metal alcalino y el com-  
puesto de fórmula (I) son generalmente utilizados en canti-  
dades equimoleculares, aunque no es necesario utilizar esta  
proporción exacta. La temperatura de reacción puede variar  
15 (en general cuanto menor sea la temperatura de reacción ma-  
yor será el tiempo de reacción y viceversa).

El siguiente ejemplo ilustra la preparación del áci-  
do C-22. En este ejemplo, el retinal, el hidruro sódico y el  
fosfonoacetato de trietilo se utilizan en cantidades equimo-  
leculares.

20 EJEMPLO

Se lava hidruro sódico (al 57 % en aceite mineral)  
con éter dietílico anhidro. A una suspensión de este hidruro  
sódico en éter dietílico anhidro, se añade fosfonoacetato de  
25 trietilo con agitación. A la solución transparente así obte-  
nida se añade retinal a 0°C, a lo largo de un periodo de 15  
minutos. La mezcla de reacción se mantiene a 0°C durante 30  
minutos y después a 35°C durante 30 minutos más. Se añade so-  
lución acuosa saturada de cloruro sódico a la mezcla resulta-  
30 te que después se enfría a 0°C. Por extracción con éter de



405105

22

1     petróleo (30-60°), secado y separación del disolvente se  
obtiene un aceite rojo oscuro.

5             Debido a la labilidad sospechada del éster así ob-  
tenido, el éster es inmediatamente hidrolizado con hidróxi-  
do potásico alcohólico a reflujo, durante 3 horas. Después  
de diluir con agua, las impurezas no ácidas se extraen co-  
mo antes. La capa acuosa se extrae con éter dietílico des-  
pués de acidular con ácido clorhídrico diluido. Después de  
10    secar y separar el disolvente, se aísla el ácido. Por re-  
cristalización en etanol al 80 % en agua tres veces se ob-  
tiene el ácido trans puro, p.f. 181-2°C.

$$\lambda_{\max} 376 \text{ m}\mu \text{ (e = 46.400)}; \nu_{\max} 1680 \text{ cm}^{-1} \text{ (carbo-}$$
$$269 \text{ m}\mu \text{ (e = 11.700) } \qquad \qquad \text{bonilo)}$$

15            La invención también proporciona una composición  
para la aplicación tópica a heridas que comprende el ácido  
C-22 o una sal del mismo en asociación con un vehículo fi-  
siológicamente aceptable.

20            El ácido C-22 o sus sales pueden ser aplicados ade-  
cuadamente a las heridas de seres humanos o animales en for-  
ma de unguento, como solución (generalmente en aceite) o en  
polvo. En todos los casos, se ha encontrado que una concen-  
tración de alrededor de 1 % en peso es generalmente adecua-  
da, aunque pueden utilizarse concentraciones mayores o meno-  
res. Por debajo de alrededor de 0,5 % en peso, la eficacia  
25    disminuye y aumentando la concentración de 1 a 2 % en peso  
aumenta la eficacia solo ligeramente.

30            Los vehículos oleosos adecuados son los aceites  
fisiológicamente aceptables en los que es soluble el ácido  
(o la sal), tales como miristato de isopropilo, aceite de

405105



1 maiz, aceite de semilla de algodón y similares. El polvo  
 puede ser preparado utilizando los cristales de ácido C-22  
 (o sal), moliendo los cristales con un vehículo inerte ade-  
 5 cuado tal como talco. El ácido C-22 o sus sales pueden ser  
 combinados con las bases habituales para unguentos utiliza-  
 das en farmacia. Una base adecuada es conocida por NIB (ba-  
 se no iónica) puesta a punto por la Escuela de Farmacia de  
 la Universidad de California y tiene la siguiente composi-  
 ción aproximada (en peso):

10	Alcohol cetílico	6 %
	Alcohol estearílico	6
	Petrolato blanco	14
	Petrolato líquido	20
	Metilparaben	0,15
15	Propilparaben	0,06
	Polisorbato 80	1,5
	Polioxi-40-estearato	5
	Propilenglicol	2
	Agua purificada c.s. para	100 %

20 Las propiedades de cicatrización de las heridas  
 del ácido C-22 han sido probadas y comparadas con las del  
 propio ácido retinoico y con otros homólogos del ácido reti-  
 noico. El procedimiento de ensayo utilizado fué el siguiente:

25 Unas ratas macho con un peso de 230 a 240 g fueron  
 anestesiadas con éter dietílico, afeitándose el pelo de su  
 lomo. Se realizó una incisión de 6 cm de longitud a través  
 de la piel y del músculo cutáneo a una distancia de 1,5 cm  
 de la línea central de cada lado. No se utilizó ninguna li-  
 30 gadura y la hemorragia habitualmente cesó al cabo de algu-



405105

1 nos minutos. Las incisiones se cerraron con suturas conti-  
 nuas de un lado a otro, separando los puntos entre sí 0,5 cm.  
 Se aplicaron los preparados conteniendo los diversos ácidos  
 sometidos a ensayo y a base de NIB, frotando suavemente,  
 5 directamente sobre la herida suturada e inmediatamente des-  
 pués de haberla producido. Se repitió la aplicación una vez  
 al día durante el primero y segundo días después de produci-  
 da la herida. En el control solamente se aplicó NIB. Al sépti-  
 mo día después de producida la herida, se midió la resis-  
 10 tencia a la tracción de la herida con un tensiómetro, cor-  
 tando las suturas con unas tijeras y midiendo la tensión  
 necesaria para abrir la herida. La resistencia a la tracción  
 requerida para abrir la herida se midió en gramos. Se obtu-  
 15 vieron los siguientes resultados:

TABLA I

<u>Número de ani- males probados</u>	<u>Acido aplicado y can- tidad usada (en peso)</u>	<u>R. a la tracción(g)</u>
14	-(control)	451 ± 9
20 6	1 % de ácido C-12	470 ± 10
8	1 % de ácido C-15	472 ± 7
11	1 % de ácido C-17	462 ± 6
12	1 % de ácido C-20	537 ± 4
6	0,5 % de ácido C-22	521 ± 3
25 3	0,5 % de ácido C-24	481 ± 2

Los ácidos empleados en este ensayo respondían a  
 la fórmula 2,6,6-trimetil-1-X-ciclohex-1-eno, donde X es un  
 grupo que contiene dobles enlaces conjugados sustituido con  
 grupos metilo en las posiciones 3 y 7 (si están disponibles).

405105



1972

1 El número que sigue a la letra C es el número total de átomos de carbono en el ácido; el ácido C-20 es, naturalmente, el ácido retinoico.

5 También se realizaron ensayos para demostrar el efecto del ácido C-22 y su sal sódica sobre la granulación, medida por el método de la bolita de algodón. Se observará que los agentes anti-inflamatorios producen una reducción en el tamaño o peso del granuloma en comparación con el del control (al que no se ha aplicado compuesto de ensayo). Los  
10 compuestos que provocan la cicatrización producen un aumento en el tamaño o peso del granuloma. El procedimiento de ensayo utilizado fué el siguiente:

15 Se indujo el desarrollo de tejido de granulación en bolitas de algodón por implantación subcutánea de las bolitas de algodón en dos puntos dorsolaterales simétricos de unas ratas macho Sprague-Dawley con un peso de  $120 \pm 5$  g, anestesiadas con éter dietílico.

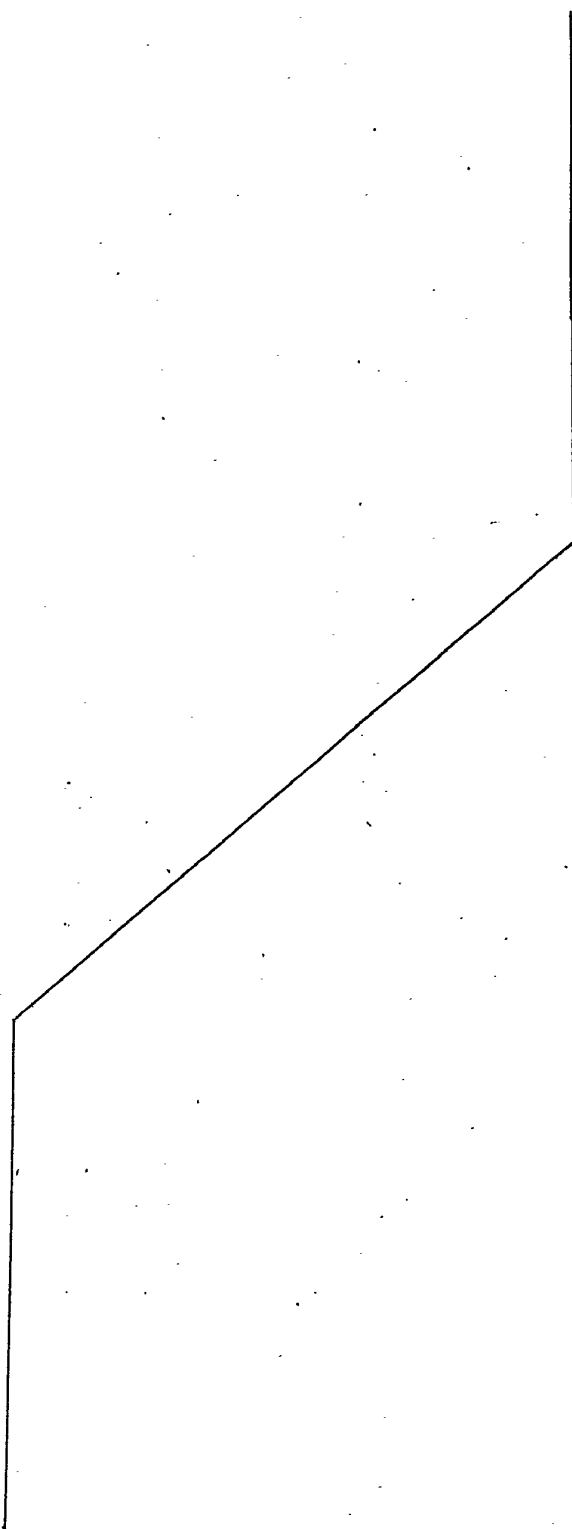
20 La bolita de algodón implantada en el lado derecho contenía 2 mg del compuesto sometido a ensayo y la bolita de algodón implantada en el lado izquierdo (que no contenía ningún compuesto) sirvió como control. El compuesto fué introducido en la bolita en solución en éter dietílico. El éter fué completamente eliminado por evaporación antes de la  
25 implantación. Al séptimo día después de la implantación, los animales fueron sacrificados con éter dietílico midiéndose los pesos corporales. Los granulomas fueron separados cuidadosamente y pesados rápidamente en una balanza de torsión. Después de secar en una estufa a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas, se  
30 pesaron de nuevo las rebanadas secas. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

405105

TABLA II

Número de prueba Compuesto ensayado	Variación media en el peso corporal del animal (g)	Peso medio del granuloma (mg)		Relación del peso del granuloma experimental		Relación del peso del granuloma experimental/control (después de secar)	
		ANTES DE SECAR	CONTROL	EXPERIMENTAL	CONTROL		
6 Acido C-12	+ 48	213,8 ± 7,5	215,3 ± 5,1	1,0	28,3 ± 3,1	26,8 ± 2,9	1,0
6 Acido C-15	+ 38	214,5 ± 2,3	215,4 ± 5,0	1,0	27,6 ± 1,0	27,8 ± 0,8	1,0
12 Acido C-17	+ 50	220,5 ± 8,2	218,9 ± 6,0	1,0	30,2 ± 2,7	29,9 ± 3,0	1,0
12 Acido C-20	+ 50	332,2 ± 4,9	218,7 ± 2,5	1,5	59,9 ± 1,7	35,1 ± 1,9	1,5
12 Acido C-22	+ 47	438,0 ± 5,4	225,9 ± 7,5	1,9	69,8 ± 2,6	36,1 ± 2,5	1,9
10 Acido C-24	+ 46	302,0 ± 12,7	216,5 ± 6,9	1,4	47,4 ± 2,1	31,3 ± 2,2	1,5
Sal sódica de ácido C-22		332,1	207,3	1,7	40,0	22,7	1,8

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



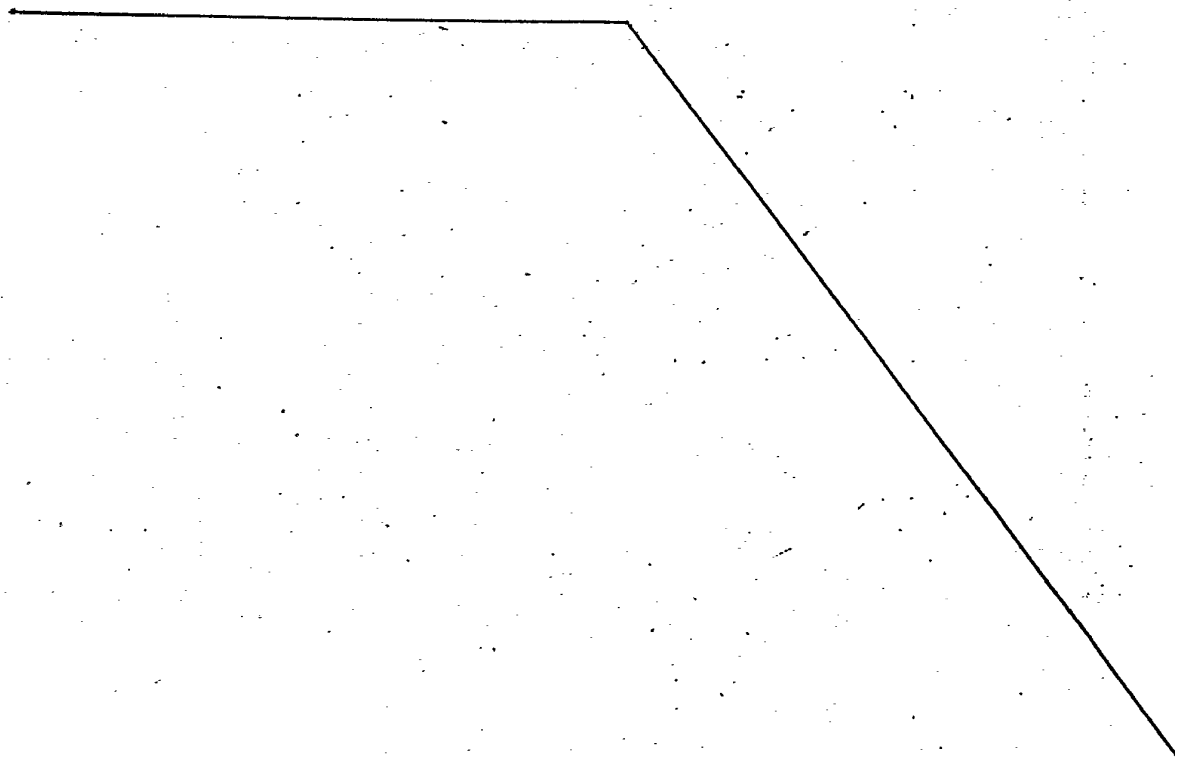
# 405105

TABLA II

1  
5  
10  
15  
20  
25  
30

Número de animales probados	Compuesto ensayado	Variación media en el peso corporal del animal (g)	Peso medio del granuloma. (mg) ANTES DE SECAR		Relación del peso del granuloma experimental/control (antes de secar)	P
			Experimental	Control		
6	Acido C-12	+ 48	213,8 ± 7,5	215,3 ± 5,1	1,0	2'
6	Acido C-15	+ 38	214,5 ± 2,3	215,4 ± 5,0	1,0	2'
12	Acido C-17	+ 50	220,5 ± 8,2	218,9 ± 6,0	1,0	3'
12	Acido C-20	+ 50	332,2 ± 4,9	218,7 ± 2,5	1,5	5'
12	Acido C-22	+ 47	438,0 ± 5,4	225,9 ± 7,5	1,9	6'
10	Acido C-24	+ 46	302,0 ± 12,7	216,5 ± 6,9	1,4	4'
	Sal sódica de ácido C-22		332,1	207,3	1,7	4'

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá



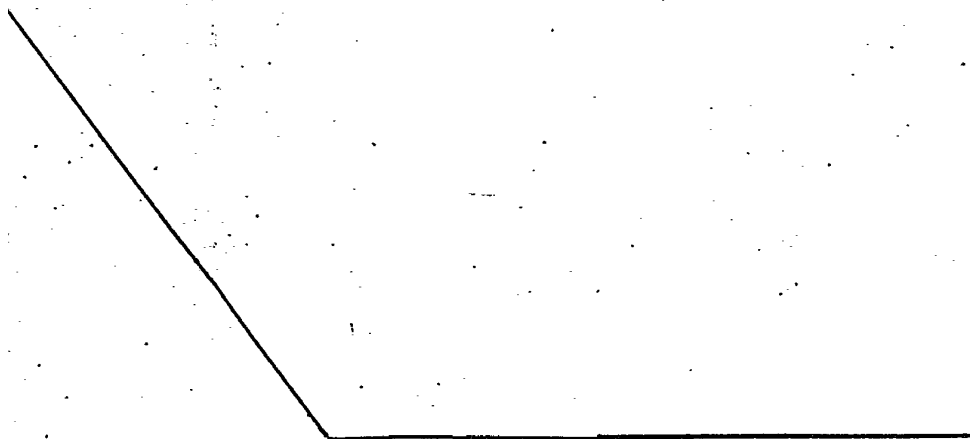


22 JUL 1972 22 JUL 1972

TABLA II

(mg) control	Relación del peso del granuloma experimental/control (antes de secar)	Peso medio del granuloma (mg) DESPUES DE SECAR		Relación del peso del granuloma experimental/control (después de secar)
		Experimental	Control	
5,1	1,0	28,3 ± 3,1	26,8 ± 2,9	1,0
5,0	1,0	27,6 ± 1,0	27,8 ± 0,8	1,0
6,0	1,0	30,2 ± 2,7	29,9 ± 3,0	1,0
2,5	1,5	59,9 ± 1,7	35,1 ± 1,9	1,5
7,5	1,9	69,8 ± 2,6	36,1 ± 2,5	1,9
6,9	1,4	47,4 ± 2,1	31,3 ± 2,2	1,5
	1,7	40,0	22,7	1,8

se solicita deberá recaer sobre las siguientes:



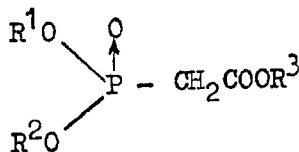
REIVINDICACIONES

1

1. Un procedimiento para la preparación de 2,6,6-trimetil-1-(10'-carboxi-3',7'-dimetil-deca-1',3',5',7',9'-pentaenil)-ciclohex-1-eno o una sal del mismo, que consiste en

5

hacer reaccionar retinal con un compuesto de fórmula:



10

(donde cada uno de los grupos R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup>, que pueden ser iguales o diferentes, representan un grupo alquilo o arilo), en presencia de un hidruro de metal alcalino e hidrolizar el éster así formado y, si se desea, cuando el producto es el ácido, convertir el ácido en una sal del mismo o, cuando el producto es una sal, convertir la sal en el ácido libre o

15

en otra sal.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, en el que el retinal se hace reaccionar con un fosfonoacetato de tri(alquilo C<sub>1</sub> o C<sub>2</sub>), en presencia de un hidruro de metal alcalino.

20

3. Un procedimiento según la Reivindicación 2, en el que el fosfonoacetato de trialquilo es fosfonoacetato de trietilo.

25

4. Un procedimiento según las Reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que el hidruro de metal alcalino es hidruro sódico.

5. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en el que el éster es hidrolizado utilizando hidróxido potásico alcohólico.

30

*Dez*

1

6. 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 2,6,6-trimetil-1-(10'-carboxi-3',7'-dimetil-deca-1',3',5',7',9'-pentaenil)-ciclohex-1-eno o una sal del mismo.

5

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de once páginas - mecanografiadas.

10

Madrid, 22 de Julio 1972

BERNARDO UNGRIA

15

20

25

30