

CASE N° AHP-5939/5168

413751



413751

Fe-21-4-75

Int. Cl.º: C07D//A61K

P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PURIFICACION DE ACIDO GAMMA-
-OXO-2-DIBENZOFURANBUTIRICO"; a favor de la firma estadouni
dense AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION, residente en 685
Third Avenue, New York, New York 10017 (EE. UU.)

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Resumen del invento.-

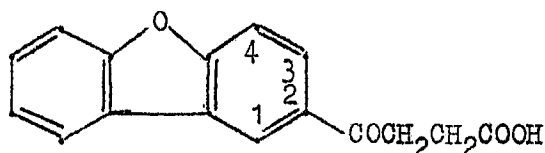
Se describe un procedimiento para la separación de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico a partir de una mezcla de dicho ácido y de ácido gamma-oxo-3-dibenzo-furan-
5. butírico. Esta mezcla se obtiene según el método de la técnica anterior de preparar ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico a partir de dibenzofurano y anhídrido succínico en una reacción de Friedel-Crafts.

La mezcla de ácidos se convierte en una mezcla
10. de sus ésteres alquílicos inferiores correspondientes que se



- separa por recristalización o cromatografía para obtener sus ésteres alquílicos componentes. La hidrólisis del éster alquílico inferior de ácido gamma-oxo-2-dibenzo-furanbutírico da el ácido correspondiente deseado. Se describen, así mismo, las composiciones para administración oral o parenteral que contienen, como ingrediente activo, ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico o sus sales acuosolubles aceptables en farmacia y los métodos para tratar estados inflamatorios mediante la administración de dichas composiciones.
- 5.
10. Este invento se refiere a un procedimiento para la purificación de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico. Este compuesto y sus sales acuosolubles aceptables en farmacia son útiles como agentes antiinflamatorios.
- El compuesto de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico ha sido descrito por F. Mayer y W. Krieger, Chem. Ber., 55B, 1659 (1922) y por H. Gimán, y colaboradores, J. Amer. Chem. Soc., 61, 2842 (1939). Este compuesto se representa por la fórmula I:
- 15.

20.



(I)

25. Se ha descubierto ahora que el compuesto antes citado posee notables propiedades antiinflamatorias y una baja toxicidad, lo cual hace que sea particularmente valioso para ser utilizado como un agente antiinflamatorio en el tratamiento de estados inflamatorios. Este compuesto, así mismo, tiene una tolerancia excepcionalmente buena con la admi

413751

- 3 -



nistración prolongada de dosis elevadas y posee un índice terapéutico altamente favorable. El compuesto citado posee también actividad analgésica y antipirética.

5. Como ventaja adicional, el compuesto no produce la formación de úlceras gastrointestinales cuando se ensaya a niveles de dosificación terapéutica para la actividad ulcerogénica en una modificación de un método conocido.

10. El compuesto de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuran-butírico, cuya solubilidad en agua es limitada, se transforma fácilmente en una sal suya altamente acuosoluble y aceptable en farmacia por trituración con una base acuosoluble; por ejemplo, un metal alcalino, metal alcalino-térreo, hidróxido amónico o amónico sustituido, o con una base orgánica. En calidad de sales amónicas sustituidas se prefieren, particularmente, aquellas que se derivan de, por ejemplo, las aminas siguientes: mono-, di- y tri-alquilaminas inferiores, los radicales alquílicos que contiene 4 átomos de carbono a lo sumo, como metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, di- y trietilamina, metil-etilamina y similares;
15. mono-, di- y trialcanolaminas, los radicales alcanólicos que contiene 4 átomos de carbono a lo sumo, tales como mono-, di- y trietanolamina; alquilendiaminas que contiene 6 átomos de carbono a lo sumo, tales como la hexametilendiamina; bases cíclicas saturadas o insaturadas que
20. contienen 6 átomos de carbono a lo sumo, tales como pirrolidina, piperidina, morfolina, piperacina y sus derivados N-alquílicos y N-hidroxi-alquílicos, tales como N-metilmorfolina y N-(2-hidroxi-etil)-piperidina, así como piridina.
- 25

413751

- 4 -



- Además, pueden citarse las sales cuaternarias correspondientes, tales como el tetraalquilo (por ejemplo tetrametilo), alquil-alcanol (por ejemplo metil-trietanol y trimetil-monotanol) y sales amónicas cíclicas, por ejemplo las sales
5. N-metil-piridínicas, N-metil-N-(2-hidroxi-etil)-pirrolidínicas, N,N-dimetilmorfolínicas, N-metil-N-(2-hidroxi-etil)-morfolínicas, N,N-dimetil-piperidínicas y N-metil-N-(2-hidroxi-etil)-piperidínicas, que se caracterizan por una solubilidad en agua particularmente buena. Sin embargo, en principio,
 10. pueden utilizarse todas las sales amónicas que sean fisiológicamente compatibles. La sal preferida es la sal sódica que puede obtenerse del ácido libre por titración con hidróxido sódico. Asimismo son útiles las sales aluminicas y férricas y se preparan, de preferencia mediante doble descomposición.
 - 15.

- Estas sales, en particular la sal sódica, son farmacéuticamente equivalentes al propio ácido. Tienen la ventaja de ser acuosolubles con mayor libertad y pueden administrarse por vía oral en forma de pastillas o cápsulas,
20. junto con excipientes y/o vehículos apropiados, o pueden administrarse parenteralmente en forma de soluciones que, a su vez, pueden contener otros solutos, tales como compuestos farmacéuticamente inactivos, en cantidad suficiente para hacer dichas soluciones isotónicas y/o preservativas con el fin de prevenir la contaminación bacteriana.
 25. Sin embargo, debe hacerse constar que el ácido libre es totalmente efectivo en farmacia con la administración oral, siendo suficientemente absorbido en el tracto gastrointestinal para proporcionar concentraciones efectivas en los

413751

- 5. -



- fluidos del cuerpo y puede administrarse por vía oral en forma de pastillas o cápsulas junto con excipientes y/o vehículos apropiados, o por vía parenteral en forma de suspensiones en disolventes o medios de suspensión aceptables en farmacia, tales como suspensiones o soluciones acuosas o gomas vegetales, carboximetilcelulosa, polietilenglicoles y similares, o en medios no acuosos, tales como en aceites vegetales aceptables en farmacia, por ejemplo en aceite de sésamo. Estas composiciones para la administración oral o
5. parenteral pueden contener de 25 a 250 mg del ingrediente activo por forma de dosificación y son particularmente útiles en el tratamiento de estados inflamatorios, especialmente en aquellos estados que están asociados con enfermedades degenerativas de las articulaciones y trastornos musculoesquelotales en humanos y animales. Estos estados patológicos están asociados, con frecuencia, con dolor y fiebre, y las actividades analgésicas y antipiréticas del ácido gamma-oxo-
10. -2-dibenzofuranbutírico junto con su acción antiinflamatoria hacen que sea particularmente valioso para su tratamiento.
15. to.
- 20.

- Las formas de dosificación preferidas son las que se describen en los ejemplos 5, 6 o 7. Estas formas de dosificación son particularmente útiles para el tratamiento de enfermedades degenerativas de las articulaciones de los
25. humanos, como, por ejemplo, gota y artritis por gota, osteoartritis, artritis traumática, atrófica, senescente o reumatoide y en el tratamiento de diversos trastornos musculoesquelotales, como por ejemplo, bursitis, lupus sistémicos, eritematosos, ciática, dolor de la baja espalda, fibromio-

413751

- 6 -



- sitis y otras enfermedades afines. La cantidad de estas formas de dosificación que han de administrarse y la duración del tratamiento variará según sea la enfermedad o la perturbación que deba tratarse y según la susceptibilidad del individuo particular, y dichas formas de dosificación pueden administrarse de modo que proporcionen cantidades totales de 1 a 30 mg de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico por kilo de peso corporal y día, de preferencia en dosis fraccionadas. Por lo general, ciertas formas de perturbaciones musculoesquelóticas asociadas con ataques agudos de dolor como, por ejemplo, gota o ciática, se tratan, de preferencia, con dosis mayores sobre períodos de tiempo comparativamente cortos, por ejemplo con 10-30 mg por kilo de peso corporal y día durante períodos de tiempo comprendidos entre 1 y 3 semanas. Por otra parte, las enfermedades degenerativas de las articulaciones u otras enfermedades afines de naturaleza más crónicas, especialmente casos de larga enfermedad, se trata, de preferencia con dosis comparativamente inferiores sobre períodos de tiempo prolongados, por ejemplo con 3 a 15 mg por kilo de peso corporal y día durante períodos de tiempo comprendidos entre uno a varios meses. Al cabo de 3 a 10 días de iniciado el tratamiento se experimenta, normalmente, la remisión del dolor y de la fiebre, en cierta medida, no obstante, es posible que deba continuarse el tratamiento, según se ha indicado antes, durante períodos de tiempo prolongados para obtener una respuesta satisfactoria, especialmente en los casos donde está comprometido el movimiento de las articulaciones.

En conexión con la frecuente necesidad de tener

413751

- 7 -



- que administrar drogas antiinflamatorias durante prolongados períodos de tiempo, el bajo grado de toxicidad y la ausencia de efectos secundarios indeseables, especialmente los de origen gastro-intestinal, hacen que el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico sea particularmente valioso para el tratamiento de enfermedades degenerativas de las articulaciones y de ciertas perturbaciones musculoesqueléticas en los humanos y en los animales, tales como, por ejemplo, caballos de carreras. En el campo de las drogas anti-inflamatorias no esteroideas, utilizadas en la terapia humana se encuentran actualmente tres compuestos a los que se puede hacer referencia como las drogas de elección, o sea, el ácido acetilsalicílico (aspirina), la fenilbutazona y la indometacina. La aspirina únicamente es efectiva en dosis comparativamente elevadas, que se indican en "Side Effects of Drugs", Vol. 6, pág. 101 fol. Williams y Wilkins, y Excerpta Medica Foundation, Baltimore y Amsterdam, 1968, las cuales causan una incidencia significativa de efectos secundarios indeseables tales como náuseas, ruido de oídos, sordera temporal, vértigo, sangradura del tracto intestinal y agravación de las úlceras pépticas. La misma fuente expone que la fenilbutazona causa, entre otras, anemia y agranulocitosis, pero sus efectos secundarios indeseables más serios parecen localizarse en el tracto gastrointestinal, siendo la incidencia de la ulceración péptica producida por la droga, según se expone, tal alta como del 1 - 2%. La incidencia total de los efectos secundarios indeseables puede alcanzar el 30-45%, siendo necesario la interrupción del tratamiento en el 8-10% de los pacientes. La fuente
- 5.
 - 10.
 - 15.
 - 20.
 - 25.

413751 - 8 -



1973

- anterior expone, asimismo, que la indometacina produce efectos adversos similares sobre el tracto gastrointestinal, no obstante se destaca que los efectos secundarios más comunes de dicha droga se encuentran en el sistema nervioso central,
5. puesto que la incidencia de cefalalgias se expone tan elevada como del 20 al 60%. Contrariamente a las drogas antes indicadas, el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico es bien tolerado aún con dosis comparativamente elevadas y no parece ofrecer ningún efecto adverso sobre el tracto gastrointestinal.
- 10.

- Un atributo distinguible de las drogas antiinflamatorias es el de que sus efectos, según la indicación de ensayos farmacológicos para determinar la actividad antiinflamatoria en animales experimentales, se manifiestan fundamentalmente, asimismo, en los humanos. Una primera autoridad en este campo, B. Silvestrini en "Methods in Drug Evaluation", North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1966, p. 46 fol, ha manifestado que existe una base sólida en los ensayos de laboratorio para la formulación y proyecto de drogas antiinflamatorias. Esta declaración, asociada con el
15. hecho de que las modernas drogas antiinflamatorias más ampliamente utilizadas en la práctica clínica, especialmente la fenilbutazona y la indometacina, han demostrado, asimismo, actividad antiinflamatoria en los ensayos farmacológicos sobre animales experimentales que se describen a continuación, señala la sólida correlación existente entre los resultados farmacológicos y la efectividad clínica en el
20. campo de las drogas antiinflamatorias. Este elevado grado de correlación se expone de forma especialmente convincente
- 25.

413751

16 ABR



en la prueba para curar artritis establecida que se describe con mayor detalle en el ejemplo 11.

5. Entre estas pruebas frecuentemente utilizadas en farmacología se encuentran la prueba del edema de pata carragaenina en la rata, la prueba de bolsa de granuloma en la rata y las pruebas para la prevención de artritis o para curar artritis establecida, ambos inducidos por medio de adyutores microbacterianos en el ratón o en la rata.

10. La prueba del edema de pata carragaenina, descrito por Winter y colaboradores, en Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Vol. III, pág. 544, (1962), consiste en inyectar carragaenina en el área subplantar de la pata posterior de la rata y, en nuestra modificación, medir el aumento de volumen causado por el edema resultante 3 horas después mediante pletismografía en mercurio y expresar el volumen en gramos de mercurio desplazado. El compuesto que ha de ensayarse se administra por vía oral en un vehículo una hora antes que la carragaenina. Los animales de control únicamente reciben el vehículo. Los resultados se expresan como
15. la reducción porcentual de la hinchazón edematosa calculada según
20.

$$\frac{\Delta \text{ control} - \Delta \text{ tratado} \times 100}{\Delta \text{ control}}$$

en donde

25. Δ control es el aumento del volumen medido en los controles sin tratar, y
 Δ tratado es el aumento de volumen hallado en los animales tratados .

En esta prueba, la indometacina utilizada como

413751



16

- un producto standard proporciona una reducción del 50% aproximadamente, con dosis de 10 mg/kg, mientras que el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico proporciona una reducción del 40%, aproximadamente, con dosis de 100 mg/kg.
5. La prueba de bolsa de granuloma, en una modificación de los métodos descritos por H. Selye en "Recent Progress in Hormone Research", Academic Press Inc., Vol.8, pág. 117 (1953) y por Robert y Nezamis en Acta Endocrinol. Vol 25, pág. 105 (1957), consiste en la formación de una
10. bolsa mediante la inyección de 25 cc de aire en el tejido subcutáneo dorsal de la rata en cuya bolsa se inyecta 0,1 cc de aceite de croton. Durante un período de 5 días se acumula el exudado en el interior de la bolsa que se revisa, asimismo, con tejido granulomatoso. Al 5º día se determina el volumen del exudado y el peso en húmedo del granuloma, hallándose de 8 - 10 cc de exudado y unos 4 g de granuloma en los controles sin tratar. El compuesto que ha de probarse se administra por vía oral en un vehículo inmediatamente después de la inducción de la bolsa de granuloma, y los animales de control reciben únicamente el vehículo al mismo tiempo. La administración del compuesto de prueba y vehículos se prosigue una vez cada día durante los 5 días de la prueba. En esta prueba la indometacina, en dosis de 5 mg/kg, proporciona el 40%, aproximadamente, de reducción del volumen del exudado y en el peso en húmedo del granuloma, mientras que el compuesto de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, en dosis de 50 mg/kg, proporciona una reducción del 40%, aproximadamente, del volumen del exudado y ninguna reducción en el peso en húmedo
- 15.
- 20.
- 25.

413751

- 11 -

16 ABR.



del granuloma.

- Las pruebas para prevenir la artritis o para curar la artritis establecida, ambas inducidas mediante adjuvante micobacteriano, en una modificación del método descrito por Newbould en Brit. J. Pharmacol. Vol. 21, pág. 127 (1963) consiste en inyectar intradérmicamente en la superficie plantar de la pata posterior izquierda de los ratones o ratas una fina suspensión de bacilos de tubérculo muertos en parafina líquida. Los bacilos de tubérculo se derivan de razas humanas FM, DT y C, los cuales se desarrollan durante 8 semanas, se exterminan con vapor y se secan en un horno de vacío. Estos se suspenden en parafina líquida a una concentración de 5 mg/cc y a esta suspensión se le denomina el adjuvante micobacteriano. Esta inyección produce una hinchazón característica, no solo en la pata posterior inyectada sino que también, después de cierto tiempo, en la pata posterior no inyectada, midiéndose ambas por medio de pletismografía y, por lo general, el aumento del volumen de la pata izquierda respectiva asciende al 100%, aproximadamente, con respecto a los controles que no han sido inyectado con el adjuvante micobacteriano.

- En la prueba para la prevención de artritis el compuesto que ha de ensayarse se administra por vía oral en un vehículo a un grupo de ratones o ratas cada día durante 14 días, a partir del día de la inyección del adjuvante micobacteriano. Al cabo de dicho período se determina el volumen de las patas posteriores inyectadas y no inyectadas por medio de pletismografía en mercurio y se expresa en gramos de mercurio desplazado. Se inyecta otro grupo de ra-

413751



- tones o ratas con el adyutor micobacteriano de igual modo que se ha indicado antes y se le administra únicamente el vehículo, para servir de controles. Los resultados se calculan de nuevo según la reducción porcentual de la hinchazón de la pata posterior respectiva como se ha descrito anteriormente.
5. En esta prueba, la indometacina en dosis de 2,5 mg/kg, la fenilbutazona en dosis de 75-150 mg/kg y el ácido acetilsalicílico en dosis de 200 - 400 mg/kg, todos ellos administrados oralmente cada día durante 14 días, producen una reducción de la hinchazón del 50%, aproximadamente, mientras que el compuesto del ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico ofrece una reducción de la hinchazón del 50%, aproximadamente, cuando se administra por vía oral en dosis de 50 mg/kg/día durante 14 días.
- 10.
15. En la misma prueba se encontró que no fué tolerada la indometacina por vía oral, en dosis de 5 mg/kg, y causó el 100% de la mortalidad; la fenilbutazona dió el 50%, aproximadamente, de la mortalidad a 300 mg/kg; mientras que el ácido gamma-oxo-2-furan-butírico fué tolerado con dosis
20. orales diarias de 400 mg/kg y no produjo ninguna muerte durante el período de prueba.
25. La prueba para curar la artritis establecida se lleva a cabo de igual manera que se ha descrito anteriormente, a excepción de que la administración del compuesto que ha de probarse en los animales tratados, o del vehículo únicamente para los controles, se inicia exclusivamente el 14º día después de la inyección del adyutor micobacteriano y se continúa durante los 14 días siguientes, evaluándose los resultados el 28º día. En esta prueba se mide y se eva-

413751

- 13 -



lúa, asimismo, como se ha descrito antes, la hinchazón de las patas posteriores inyectadas y no inyectadas. Los resultados que se obtienen con los compuestos anteriormente expuestos son esencialmente iguales a los descritos precedentemente.

5. En nuestra prueba para determinar la actividad ulcerogénica con niveles de dosificación terapéutica, se aíslan ratas hambrientas en jaulas individuales y se les administra por vía oral los compuestos que han de probarse en un vehículo, de forma diaria durante 3 días. Al cuarto
10. día, se sacrifican los animales y el número y gravedad de las úlceras en el tracto gastrointestinal se determinan mediante inspección ocular y se señalan como sigue: las úlceras halladas son valoradas según el tamaño y gravedad con 1, 2, 3 ó 4. El número de úlceras encontradas en cada categoría de cada animal se multiplica por el valor respectivo y la suma de los resultados obtenidos dentro de cada grupo experimental de animales se divide por el número de animales del grupo particular. La cifra resultante se le denomina el índice de úlcera. En esta prueba los animales
15. de control que reciben el vehículo únicamente durante el período de la prueba desarrollan unas pocas lesiones secundarias en el área fundal del estómago y una lesión ocasional en el área glandular. La indometacina con niveles de dosificación de 5 mg/kg y la fenilbutazona con niveles de
20. dosificación de 100 mg/k producen ambas un aumento significativo de la incidencia y severidad de las úlceras sobre los valores de control, mientras que el ácido gamma-oxo-2--furan-butírico no produce un aumento de esta índole con
25. niveles de dosificación de 100 y 200 mg/kg, ofreciendo,



no obstante, un aumento significativo con 300 mg/kg.

- En una modificación de la prueba para la actividad antipirótica descrita por Winter y colaboradores, en Toxicol. appl. Pharmacol. Vol. 5. pág. 247 (1963), se inyectan por vía intravenosa ratas albinas macho de unos 200 g de peso corporal con 0,2 cc de una dilución 1:6 de la vacuna Bordetella pertussis y se mide la temperatura del cuerpo con una sonda oral conectada a un termómetro eléctrico. Los compuestos que han de ensayarse se administran por vía oral en un vehículo al mismo tiempo, aproximadamente, que la inyección de vacuna y los controles sin tratar reciben únicamente el vehículo. Por lo general se toma la temperatura cada hora durante 6 horas. En esta prueba el aumento usual de la temperatura en los controles sin tratar es de 1,8°C aproximadamente, sobre la temperatura normal. La fenilbutazona, utilizada como standard, suprime este aumento con dosis de 100 mg/kg, y el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico tiene esencialmente el mismo efecto con niveles de dosificación de 100 mg/kg.
5. En nuestra prueba para determinar la tolerancia de la droga se enjaulan individualmente ratas albinas macho de unos 140 g de peso corporal y se les administra por vía oral, en un vehículo, el compuesto que ha de probarse, una vez cada día durante por lo menos 30 días y hasta 40 días a lo sumo. Se determinan los pesos corporales a intervalos regulares, se anotan las muertes, y al cabo del período de prueba se sacrifican los animales. Se lleva a cabo un exámen general y se pesan las glándulas suprarrenales, los riñones, el bazo, los testes, el hígado, el co-
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

413751



- razón y la hipófisis y se examinan visualmente el estómago y los intestinos en busca de señales de lesión. Los controles que reciben únicamente el vehículo experimentan un aumento de peso del 120%, aproximadamente, en 30 días y después del examen no se observa anomalías. El ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, con dosis orales diarias de 100 mg/kg durante 40 días, no produce cambios significativos en la curva de crecimiento y no se observan anomalías en los órganos internos de los animales.
- 5.
10. Partiendo de los datos anteriores puede calcularse un índice terapéutico para los compuestos ensayados dividiendo la dosis con la que el compuesto resulta efectivo en la prueba para la prevención de artritis en la dosis tolerada durante 14 días en la misma prueba. Por "tolerada" se entiende la dosis que no produce indicios obvios de toxicidad o muerte durante el período de prueba. El índice terapéutico, calculado de este modo, para la indometacina es de 2,5 aproximadamente, para la fonilbutazona es de 4, aproximadamente, y para el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutílico es de 8, aproximadamente.
- 15.
20. Una preparación del agente útil de este invento, ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, es descrita por H. Gilman y colaboradores, citado antes. A primera vista, esta preparación que se expone aparece conveniente y práctica. Según este informe el agente útil de este invento se obtiene directamente mediante la reacción de dibenzofurano y anhídrido succínico en una reacción del tipo de Friedel-Crafts. Además, Gilman manifiesta que este método proporciona un rendimiento del 83% del ácido gamma-oxo-2-diben-
- 25.

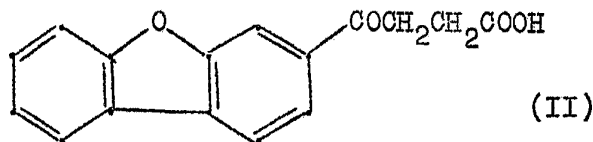
413751



zofuranbutírico purificado.

Sin embargo, contrariamente a dicho informe, un examen a conciencia de este producto con los métodos actuales para detectar la homogeneidad, por ejemplo, cromatografía de gas líquido (cgl), indica que el producto del procedimiento Gilman no es el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico purificado (I) sino más bien una mezcla. Esta mezcla está constituida por el ácido deseado I y una cantidad insignificante de su isómero, ácido gamma-oxo-3-dibenzofuranbutírico de la fórmula II

- 5.
- 10.



- 15.
- 20.

Si bien tanto el ácido deseado I como el isómero II poseen actividad antiinflamatoria y aunque ambos pueden utilizarse para esta finalidad en la forma que aquí se describe para el ácido I, se ha encontrado que el ácido (I) citado es significantemente más activo y tiene un principio de acción más rápido.

- 25.

La tabla I que sigue expone los resultados obtenidos para el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico (I) y su isómero II. Los errores estándar de todos los valores se calculan y exponen en la tabla que sigue. Los resultados se evalúan estadísticamente y según la prueba t del "Student" el ácido (I) resulta significantemente más activo que el isómero II

413751

- 17 -



TABLA 1
EFEECTO SOBRE EL EDEMA DE PATA CARRAGAENINA

	COMPUESTO	DOSIS mg/Kg	EDEMA ⁺	% DE INHIBICION
5.	Experimento A			
	Ninguno	-	12.3 ± 0,65	-
	ácido gamma-oxo-2- -benzofuranbutírico	200	2.7 ± 0,36	78
		100	5.7 ± 0,42	54
		50	7.7 ± 0,88	37
10.	Experimento B			
	Ninguno	--	14.3 ± 2.2	-
	ácido gamma-oxo-3- -benzofuranbutírico	400	10.3 ± 1.05	28
		200	9.5 ± 1.11	34
		100	13.6 ± 1.38	5
15.	Experimento C			
	Ninguno	-	12.1 ± 0.43	-
	ácido gamma-oxo-2- -benzofuranbutírico	100	4.8 ± 0.46	60
20.	ácido gama-oxo-3-ben- zofuranbutírico	100	9.9 ± 0.67	18

+ - Los resultados se expresan en gramos de mercurio desplazado. En esta prueba al ácido gamma-oxo-3-benzofuranbutírico es significativamente menos activo ($P < 0.01$, prueba t) que el ácido gamma-oxo-2-benzofuranbutírico (véase particularmente el experimento C).

Los resultados antes expuestos demuestran claramente que tiene una importancia significativa la obtención de un procedimiento para separar estos dos ácidos.



La presencia del isómero II en el producto de esta preparación supone un problema difícil con respecto a su separación del ácido descado I. La dificultad estriba principalmente en el hecho de que el isómero II posee muchas características físicas similares a las del ácido descado I. Por consiguiente, la separación directa del isómero II del ácido descado I a base de una escala razonable con medios convencionales ha probado ser, hasta ahora, una operación irrealizable o impráctica. Por ejemplo, la cristalización de la mezcla de ácidos en diversos disolventes, por ejemplo, tolueno, acetato de etilo y metanol, no modifica sustancialmente las proporciones relativas de los dos ácidos en la mezcla.

Por consiguiente, el objeto de este invento consiste en revelar un método con el que pueda separarse fácilmente el isómero II de la mezcla antes citada, de modo que el ácido I descado se obtenga en una forma pura.

Por muchas razones, incluyendo las exigencias sofisticadas y de exactitud de las organizaciones de fabricación y de gobierno para controlar y mantener la calidad de una droga, es deseable que se pueda preparar la droga en su estado más elevado posible de pureza.

El procedimiento de este invento comprende un método para separar un primer ácido, el ácido gamma-oxo-2--dibenzofuranbutírico de una mezcla del primer ácido, presente en una cantidad de, por lo menos, el 80% en peso de la mezcla, y su segundo ácido, isomérico, el ácido gamma-oxo-3-dibenzofuranbutírico. El método comprende :

(1) someter la mezcla del primer y segundo áci-

413751

- 19 -



do a condiciones de esterificación para obtener una mezcla de los ésteres alquílicos inferiores correspondientes.

5. (2) separar la mezcla de los ésteres para obtener el éster alquílico inferior del ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico y el éster alquílico inferior del ácido gamma-oxo-3-dibenzofuranbutírico, y

10. (3) someter el éster alquílico inferior del ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico a condiciones de hidrólisis para obtener su ácido correspondiente, el referido primer ácido.

15. El término "alquilo inferior", tal como aquí se utiliza, significa radicales alquílicos de cadena lineal que contienen de uno a seis átomos de carbono y radicales alquílicos de cadena ramificada que contienen cuatro átomos de carbono a lo sumo e incluyen el metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo, hexilo y similares.

20. El término "alcohol inferior" tal como aquí se utiliza, significa alcoholes alifáticos de cadena lineal que contienen de uno a seis átomos de carbono y alcoholes alifáticos de cadena ramificada que contienen de uno a cuatro átomos de carbono e incluyen el metanol, etanol, isopropanol, n o t-butanol, pentanol, hexanol y similares.

25. En la práctica del procedimiento de este invento, el producto obtenido de la reacción del dibenzofurano y del anhídrido succínico, antes citada, se utiliza como material de partida. Este producto es realmente una mezcla del ácido descado, ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico (I) y su isómero estructural, ácido gamma-oxo-3-dibenzofu

413751

- 20 -



ranbutírico (II). El examen de este producto por medio de egl indica que es una mezclado 9 a 1, aproximadamente, del ácido I deseado y el isómero II.

5. Esta mezcla de ácidos se somete primero a condiciones de esterificación con lo que la mezcla se convierte en una mezcla correspondiente de ésteres alquílicos inferiores.

10. Las condiciones de esterificación apropiadas comprenden diversos métodos; por ejemplo, intercambio de éster, tratamiento con diazometano, o conversión de la mezcla de ácidos a una mezcla de haluros de ácido o anhídridos combinados seguido de tratamiento de estos últimos con un alcohol inferior apropiado, véase, asimismo, L.F. Fieser y M. Fieser, "Advanced Organic Chemistry", Reinhold Publishing Corporation, New York 1961, págs. 370-381.

20. Las condiciones de esterificación preferidas comprenden el tratamiento de la mezcla de ácidos con un alcohol inferior, por ejemplo, metanol, etanol, n-propanol, n-butanol o similares, en presencia de un catalizador de ácido apropiado, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido perclórico, eterato de trifluoruro bórico y similares.

25. La elección de la temperatura y duración del tiempo reaccional para llevar a cabo la esterificación no es crítica, dependiendo en gran medida del catalizador y del alcohol inferior utilizado para la reacción. Normalmente se prefiere llevar a cabo la reacción a temperaturas comprendidas entre 20°C y el punto de ebullición de la mezcla durante un período de 15 minutos a 24 horas.

413751



5. En una realización preferida la esterificación se lleva a cabo disolviendo la mezcla de los ácidos en 10 a 25 partes (peso/volumen) de metanol. Luego se adiciona ácido clorhídrico concentrado (1/10 a 1/8 de volumen por peso de la mezcla de ácidos) y la mezcla resultante se calienta hasta reflujo y se hierve durante 30 minutos. La mezcla de ésteres se aísla diluyendo la mezcla reaccional enfriada con agua y separando el sólido resultante.

10. Luego se cristaliza la mezcla de ésteres de forma fraccionada en un disolvente apropiado. Los disolventes apropiados para la cristalización incluyen los hidrocarburos aromáticos, por ejemplo, tolueno, benceno o o-xileno; alcanos inferiores de alquilo inferior, por ejemplo, acetato etílico, propionato metílico o acetato butílico;

15. los hidrocarburos halogenados inferiores, por ejemplo, cloroformo, tetracloruro de carbono, dicloruro de etileno; así como otros disolventes no reactivos, por ejemplo, los alcoholes inferiores, o sea, metanol o etanol; cetonas alifáticas inferiores, por ejemplo, acetona o metil-etil-cetona,

20. sulfóxido de dimetilo, N,N-dimetilformamida y acetonitrilo. Para esta finalidad los disolventes especialmente convenientes y totalmente apropiados son el tolueno y el metanol.

25. En uno de los disolventes antes citados se prepara, de preferencia, una solución del 5 al 10% (peso por volumen) de la mezcla de ésteres, obtenida como se ha descrito anteriormente. Por lo general, las cantidades apropiadas de la mezcla de ésteres y del disolvente se calientan conjuntamente hasta que se obtiene la solución. A con

413751



tinuación, el enfriamiento de la solución ofrece la cristalización preferente del éster respectivo del ácido I desca-

5. Durante la operación precedente la gama de temperaturas que cubre el calentamiento y la refrigeración se elige atendiendo a consideraciones prácticas, o sea, el punto de ebullición del disolvente, la solubilidad de la mezcla, la temperatura del baño de refrigeración, etc. Por ejemplo, en el caso donde se utiliza tolueno como disolvente,
10. la mezcla de los ésteres (5 a 10%, peso/volumen) y el tolueno puede calentarse desde 40°C hasta el punto de ebullición del tolueno (111°C) y luego enfriarse por debajo de 40°C, siendo suficiente la diferencia de la temperatura para proporcionar un elevado rendimiento de cristales. A
15. continuación se mantiene la mezcla de cristalización a la temperatura inferior hasta que se completa la cristalización, normalmente durante más de 15 minutos y, de preferencia, sobre una hora. Se separan los cristales de la mezcla resultante, por ejemplo, por filtración. De este modo se
20. aísla el éster de alquilo inferior de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico (pureza > 99%).

- Alternativamente, la mezcla de los ésteres alquílicos inferiores puede separarse por cromatografía. Para esta finalidad pueden utilizarse diversos tipos de absorbentes. Los absorbentes preferidos son el gel de sílice
25. y la alúmina neutra, si bien pueden utilizarse otros tipos de alúmina. Además, pueden utilizarse diversos sistemas de disolventes como el eluyente, por ejemplo, dicloruro de metileno-éter, hexano-metanol o benceno-cloroformo. Es-

413751



- te último sistema resulta particularmente conveniente y eficaz con gel de sílice. En este caso se dispone la mezcla de ésteres sobre la columna con benceno o benceno-clorofor-
mo (10:1). Por medio de la disminución escalonada de la re-
5. lación de benceno-clorofor-
mo hasta (1:1) se eluye primero
de la columna el éster de alquilo inferior del ácido I deseado, seguido de la elución de las mezclas de los ésteres alquílicos inferiores del ácido I deseado y del isómero II, y finalmente del éster alquílico inferior del isómero puro
10. II. La concentración subsiguiente del eluyente que contiene el éster alquílico inferior del ácido I deseado ofrece el aislamiento definitivo del éster. Asimismo, se obtiene de igual modo el éster del isómero II.

- El éster alquílico inferior del ácido I deseado
15. se convierte en el ácido I deseado (pureza > 99%) por tratamiento con un agente hidrolizante en condiciones de hidrólisis. En términos generales, esta conversión se lleva a cabo, de preferencia, utilizando una base en función del agente hidrolizante. La hidrólisis se efectúa en presencia
20. de agua suficiente, seguido por la acidificación de la mezcla reaccional para obtener el ácido deseado. Sin embargo, debe hacerse constar que la práctica de la hidrólisis para el procedimiento de este invento no se limita a la hidrólisis básica puesto que son, asimismo, aplicables la hidrólisis bajo condiciones ácidas y otras variantes, por ejemplo,
25. el tratamiento con yoduro de litio en colidina (véase L.F. Fieser y M. Fieser, "Reagents for Organic Synthesis" John Wiley and Sons, Inc., New York 1967, págs. 615-617).

Para la hidrólisis básica una realización prefe-

413751

16 ABR.



- rida comprende el someter el éster de alquilo inferior a la acción de una base fuerte, por ejemplo, hidróxido sódico o potásico, en presencia de agua suficiente para que se realice la hidrólisis del éster. La hidrólisis se lleva a cabo utilizando un disolvente apropiado, por ejemplo, metanol o etanol.
- 5.
- La mezcla reaccional se mantiene a una temperatura comprendida entre 25°C y la temperatura de reflujo hasta que se produce la hidrólisis. Por lo general es suficiente de 10 minutos a 6 horas para esta hidrólisis. Luego se vuelve acídica la mezcla reaccional con un ácido, por ejemplo, ácido acético, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y similares, para que se desprenda el ácido libre en forma sólida.
- 10.
- Alternativamente se mezcla la mezcla reaccional con una solución de un agente hidrolizante que es un ácido orgánico o inorgánico fuerte, por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido p-toluensulfónico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares, a una temperatura de, por lo menos, 60°C, y de preferencia comprendida entre 90°C y la temperatura del punto de ebullición de la mezcla, hasta que se produce la hidrólisis. Por lo general se requieren de 5 a 24 horas para esta hidrólisis. Los disolventes apropiados para el ácido comprenden el agua, el ácido acético, los alcoholes acuosos y similares. En caso de que se utilice hidrólisis de ácido, el ácido libre se forma directamente. Si es necesario puede diluirse la mezcla reaccional con agua para que precipite el producto.
- 15.
- 20.
- 25.

413751

- 25 -



De modo análogo y, en caso deseado, se obtiene el isómero II por hidrólisis del éster alquílico inferior del isómero III producido como se ha descrito anteriormente.

5. Es por ello que el método de purificación aquí descrito proporciona el ácido I deseado con, por lo menos, un 95% de pureza y normalmente con una pureza superior al 99%.

Los ejemplos que siguen amplían la ilustración de este invento.

10.

EJEMPLO 1

ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico (I) y

ácido gamma-oxo-3-dibenzofuranbutírico (II)

15. Se prepara una mezcla de los compuestos del enunciado de conformidad con el procedimiento de Gilman y colaboradores antes citado.

A continuación se expone un ejemplo de este procedimiento :

20. Se trata una mezcla agitada de 50 kg de dibenzofurano en 200 litros de cloruro de metileno con 20 kg de anhídrido succínico. Se enfría la suspensión resultante a 5°C y se le adiciona, durante un período de 3 horas, 54 kilos de cloruro aluminico anhidro, manteniendo la temperatura entre 5 y 8°C. Se agita la mezcla durante 20 horas a 24°C.

25.

Luego se enfría la mezcla en una mezcla fría de 300 litros de ácido clorhídrico al 30% y 300 litros de agua helada. Se recoge el precipitado resultante y se lava con agua.

Se disuelve el precipitado sólido húmedo en 200

413751

- 26 -



- litros de agua que contiene 24 kg de solución de hidróxido potásico al 45% y se lava la solución con acetato etílico (1 x 60 litros + 1 x 40 litros). A la fase alcalino acuosa se le añaden 4 kg de carbón y se agita la mezcla durante 1 hora a la temperatura ambiente. Se separa el carbón por filtración a través de una almohadilla de tierra de diatomeas (Celite). La torta de filtración se lava con agua.
- 5.
- El filtrado y las lavazas se ajustan a pH 4,5
10. con ácido acético glacial (se precisan 42litros) y se recoge el precipitado y se lava con agua. El sólido húmedo (punto de fusión 182-184°C) se disuelve en 700 litros de isopropanol calentándolo a 80°C y se clarifica la solución caliente por filtración a través de una almohadilla de
15. tierra de diatomeas. Se lava la torta de filtración con 50 litros de isopropanol caliente y se combinan las lavazas y el filtrado, se concentran bajo presión reducida hasta 240 litros y se enfría el concentrado a 10°C, agitando a esta temperatura durante una noche con suave agitación.
20. Se recogen los cristales que se separan mediante filtración, se lavan con isopropanol y se secan en un horno de vacío a 60°C durante 40 horas para obtener una mezcla de los compuestos del enunciado en una proporción aproximada de 9:1 (peso/peso), respectivamente.
25. La proporción de los dos compuestos del enunciado en la mezcla de producto se determina por cgl de sus ésteres metílicos correspondientes (véase el ejemplo 2), Por ejemplo, los ésteres isoméricos se separan utilizando una columna de 12 pies y 2,8 mm de d.i. (So-30 al 15% so

413751

- 27 -



5. bre GCQ 80-100 mallas, o sea dimetilpolisiloxano al 15 % sobre ácido y disolvente calcinado, lavado y luego tierra de diatomeas silanizada, obtenido de Applied Science Laboratories, State College, Penn.) a 255°C y un flujo de 30 cc/minuto.

EJEMPLO 2

Ester metílico de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico

10. Una mezcla de 43,2 kg de la mezcla de ácidos preparada según el ejemplo 1, 1050 litros de metanol y 5,4 litros de ácido clorhídrico se calienta hasta reflujo durante un período de 25 minutos y luego se hierve durante 1 hora. El examen de la mezcla reaccional mediante ctl (SiO₂, benceno) utilizando ácido sulfúrico en forma de pulverización indica que la esterificación se completa después de
15. 30 minutos de ebullición. Se enfría la solución resultante. Se recogen los cristales precipitados. Los cristales (peso en seco = 42,5 kg. aproximadamente) no se secan sino que se disuelven en 400 litros de tolueno mediante calentamiento a 90°C. Luego se enfría la solución con agitación lenta a 28°C durante 6 horas. Se recogen los cristales. Este
20. producto aparece, con el examen de cgl, véase el ejemplo 1, casi exento del éster metílico II de isómero (> 1%). Estos cristales, sin secarse, se disuelven en 55 litros de tolueno mediante calentamiento a 90°C y se enfría la solución a 0°C con lenta agitación. Se recogen los cristales
25. por filtración, se lavan con 10 litros de tolueno y se secan a 65°C, bajo presión reducida, para obtener el compuesto del enunciado, en forma de cristales incoloros purificados, punto de fusión 118,5 - 119°C.

413751

- 28 -



De igual modo, pero sustituyendo el metanol por una cantidad equivalente de etanol o de n-propanol, se obtiene éster etílico y propílico de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, respectivamente.

5. De igual modo, pero sustituyendo el tolueno por benceno, acetato de etilo o metanol se obtiene, asimismo, el compuesto del onunciado.

EJEMPLO 3

Acido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico purificado.

10. Una mezcla de 51,4 kg de éster metílico de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, punto de fusión 118,5-119°C, preparado como se describe en los ejemplos 2 o 4, 210 litros de agua, 52 litros de metanol y una solución de 10,6 kg de escamas de hidróxido sódico disueltos en 10 li-
15. tros de agua, se agita a 75 - 77°C durante 75 minutos, se enfría a 40°C y se ajusta el pH a 2,2 con ácido clorhídrico. Se enfría la suspensión cristalina blanca a 30°C y se recoge el precipitado por filtración, se lava mediante agi-
20. tación con 300 litros de agua y luego se recoge por filtra-
ción, se lava sobre el filtro con agua y se seca en un horno de vacío a 75°C durante 48 horas.

- Se somete a reflujo, durante 1 hora, una mezcla del ácido seco obtenido antes (56,7 kg) y 1500 litros de acetona. Se filtra la solución turbia a través de papel pa-
25. ra clarificarla y se concentra el filtrado, de color paja pálido, hasta un volumen de 280 litros. Se enfría el resi-
duo a -5°C y se recogen los cristales mediante filtración, se lavan sobre el filtro con 40 litros de acetona fría (-5°C) y se secan en el horno de vacío a 45°C durante 12

413751



horas para obtener el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico purificado, de punto de fusión 189-190°C (pureza superior al 99%).

5. De igual modo pero sustituyendo el éster metílico de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico con una cantidad equivalente del éster metílico de ácido gamma-oxo-3-dibenzofuranbutírico, descrito en el ejemplo 4, se obtiene, después de recristalización en etanol, el ácido gamma-oxo-3-dibenzofuranbutírico, de punto de fusión 208-210°C.

10. De igual modo pero sustituyendo el éster metílico de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico por su correspondiente éster etílico o propílico, descrito en el ejemplo 2, se obtiene, asimismo, el compuesto del enunciado.

EJEMPLO 4.

15. Se efectúa una modificación del procedimiento del ejemplo 2, para lo cual se secan los cristales precipitados de la mezcla reaccional.

20. A continuación, una mezcla de los ésteres metílicos de ambos ácidos I y II (10,00 g), se disuelve en 300 cc de benceno y se vierte en una columna de 500 g de gel de sílice. Después de lavar la columna con benceno, ulterior elución con fracciones de benceno-cloroformo (10:1) 800 cc seguido por elución con benceno-cloroformo (1:1) se obtiene después de recristalización en benceno, el éster metílico
25. de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico purificado, descrito en el ejemplo 2, seguido de fracciones posteriores que contienen una mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos de las fórmulas I y II y finalmente fracciones de éster metílico de ácido gamma-oxo-3-dibenzofuranbutírico,

413751

- 30 -



1973

de punto de fusión 106-108°C.

Asimismo, se obtienen idénticos resultados sustituyendo el gel de sílice por alúmina neutra.

EJEMPLO 5

5. Se mezcla el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico (25 g), preparado como se describe en el ejemplo 3, con 175 g de lactosa, 44 g de almidón, 4 g de estearato magnésico y 2 g de sacarosa. Se granula la mezcla mediante la adición de una pequeña cantidad de alcohol etílico, se seca, se muele y se comprime para formar pastillas de 250 mg de peso cada una o se introduce en cápsulas en cantidad de 250 mg cada una, para obtener 1000 pastillas o cápsulas conteniendo 25 mg del ingrediente activo por pastilla o cápsula.
- 10.
15. De igual modo, pero utilizando 50 g de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, preparado como se describe en el ejemplo 3, y 150 g de lactosa, junto con las mismas cantidades de almidón, estearato de magnesio, y sacarosa antes indicadas, se obtienen 1000 pastillas o cápsulas conteniendo 50 mg del ingrediente activo por pastilla o cápsula.
- 20.

EJEMPLO 6

25. Se disuelve ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico (25 g), preparado como se describe en el ejemplo 3, en agua exenta de pirógeno (900 cc), ajustando el pH a 7,5 - 8,5 con solución de hidróxido sódico y adicionando suficiente cloruro sódico, citrato sódico o glucosa para hacer la solución isotónica. Se adiciona un preservativo como 0,1 % en peso por volumen de metilparaben y 0,015 %

413751

- 31 -



- en peso por volumen de propilparaben 0,5 % en peso por volumen de clorobutanol, se completa la solución hasta 1000 cc, se esteriliza por filtración o en autoclave, y se
5. solución para administración parenteral conteniendo 25 mg del ingrediente activo por centímetro cúbico en la forma de su sal sódica.

- De igual modo, pero utilizando 50 g de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, preparado como se ha descrito en el ejemplo 3, y siguiendo el procedimiento anterior aunque sin la adición de cloruro sódico, citrato o glucosa, se obtiene una solución que contiene 50 mg/cc del ingrediente activo en la forma de su sal sódica.
- 10.

- Asimismo de igual modo, pero utilizando en lugar de hidróxido sódico, hidróxido lítico, potásico, cálcico o amónico, o soluciones acuosas de metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, dietilamina, trietilamina, metil-etilamina, mono-, di-, o trietanolamina, etilendiamina, hexametilendiamina, pirrolidina, piperidina, morfolina, piperacina, N-metilmorfolina, N-(2-hidroxi-etil)piperidina, o piridina, o bases cuaternarias que contengan el ión amónico de tetrametilo, metil-trietanol, o trimetil-monoetanol, o los iones N-metilpiridínicos, N-metil-N-(2-hidroxi-etil)-pirrolidínicos, N,N-dimetilmorfolínicos, N-metil-N-(2-hidroxi-etil)-morfolínicos, N,N-dimetil-piperidínicos, se obtienen, asimismo, las sales correspondientes del ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico.
- 15.
- 20.
- 25.

EJEMPLO 7

Se esteriliza en autoclave el ácido gamma-oxo-

413751

- 32 -



- 2-dibenzofuranbutírico (50 g), preparado como se ha descrito en el ejemplo 3. Se mezcla el sólido estéril, bajo condiciones estériles, con 970 cc de aceite de sésamo y 15 cc de alcohol bencílico estéril y se completa hasta 1000 cc
5. con aceite de sésamo estéril para obtener una suspensión estéril para administración parenteral que contiene 50 mg/cc del ingrediente activo, con el que se llenan viales bajo condiciones estériles.

- De igual modo, pero utilizando una suspensión acuosa de carboximetilcelulosa en lugar de aceite de sésamo
10. y mediante la dispersión del ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico con una mezcladora mecánica y esterilización en autoclave, se obtiene una suspensión acuosa que contiene 50 mg/cc del ingrediente activo y se introduce en ampollas
15. o viales.

EJEMPLO 8

Prueba de edema de pata carragaenina.

- Ratas albinas macho de unos 140 g de peso corporal se dividieron en grupos de seis animales cada uno. Se
20. midió el volumen de la pata posterior izquierda, hasta la línea del pelo de la articulación del tobillo, sumergiendo dicho miembro en mercurio y pesando el mercurio desplazado por el miembro.

- Se inyectó el área subplantar de la pata posterior izquierda de cada animal con 0,1 cc de una solución
25. al 1% de carragaenina en agua destilada. El compuesto que debía probarse se administró oralmente una hora después de la inyección de la solución de carragaenina en suspensión acuosa conteniendo pequeñas cantidades de un agente tenso-

413751

- 33 -



- activo ("Tween 80") en una concentración tal que la dosis que debía administrarse quedó contenida en 1 cc del vehículo por 100 g de peso corporal. Se determinó de nuevo el volumen de la pata posterior izquierda de cada animal tres horas después de la inyección de carragaenina en la misma forma que se ha descrito antes. Un grupo de seis animales recibieron únicamente el vehículo en calidad de controles sin tratar y se calculó la reducción porcentual de la hinchazón del modo antes descrito. Todos los resultados se calcularon como los valores medios de un grupo dado de animales y se resumen en la Tabla 2.

TABLA 2

	15.	20.	25.	Tiempo transcurrido después de la inyección de carragaenina, en horas.	Tratamiento y dosis	Aumento del volumen (hinchazón +)	Reducción porcentual de la hinchazón de los controles
				3	Solo vehículo	28,3 ± 1,6	-
				3	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico 50 mg/kg.	25,3 ± 3,2	11 %
				3	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico 100 mg/kg.	17.2 ± 1,3	39 %
				3	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico 200 mg/kg.	15.3 ± 1.6	46 %
				3	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico 400 mg/kg.	12.3 ± 1.2	57 %
					Indometacina 10 mg/kg.	15.8 ± 1.1	44 %

+) - Expresado según los gramos de mercurio desplazado.

413751

- 34 -



EJEMPLO 9

Prueba de bolsa de granuloma.

- Se inyectó en el tejido subcutáneo dorsal de ratas albinas macho, de unos 150 g de peso corporal, 25 cc de aire. En la bolsa producida como se ha indicado antes se inyectó aceite de croton (0,1 cc). Un grupo de animales recibió 5 mg/kg de indometacina por vía oral mediante administración suspendida en agua conteniendo un agente tensoactivo ("Tween 80") en una concentración tal que la dosis se dividió en un volumen de fluido correspondiente a 1 cc por 100 g de peso corporal y se repitió esta administración una vez cada día durante 5 días. Otro grupo de animales, utilizados como controles, recibieron únicamente el vehículo de modo igual al descrito anteriormente. Se administró a dos grupos más de animales 25 mg/kg y 50 mg/kg de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico, respectivamente, asimismo en la forma anteriormente descrita. Al quinto día se sacrificaron los animales, se abrieron las bolsas, se vació el exudado en cilindros graduados y se midió. El tejido granulomatoso de cada bolsa se despedazó, se secó con papel de filtro y se pesó. En las evaluaciones anteriores se utilizaron para el cálculo los volúmenes y pesos medios obtenidos de cada grupo de animales.

- En esta prueba el volumen del exudado en los controles sin tratar fué de $8,8 \pm 0,4$ cc. En el grupo de animales tratados con 5 mg/kg de indometacina el volumen de exudado fué de $5,0 \pm 0,5$ cc, equivalente a una reducción del 43% sobre los controles sin tratar. En los grupos de animales tratados con 25 mg/kg y 50 mg/kg de ácido gamma-

413751

- 35 -



oxo-2-dibenzofuranbutirico el volumen de exudado hallado fué de $7,9 \pm 0,9$ y $5,2 \pm 1,1$ cc, respectivamente, correspondiente a una reducción del 10% y del 41 % sobre los controles sin tratar.

5. El peso en húmedo del granuloma en el grupo de controles sin tratar fué de 4,26 g; en el grupo tratado con 5 mg/kg de indometacina de 2,81 g, correspondiente a una reducción del 34% sobre los controles sin tratar; y en los dos grupos tratados con 25 mg/kg y 50 mg/kg de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico el peso del granuloma fué de 4,61 y de 4,18 g, respectivamente, lo que indica, por tanto, que no se produjo reducción del peso sobre los controles sin tratar.

EJEMPLO 10

15. Prueba para la prevención de artritis.

- Ratas albinas macho de unos 160 g de peso corporal se dividieron en grupos de 10 animales cada uno. Se determinó el volumen de ambas patas posteriores por medio de ple-tismografía en mercurio, pesando el mercurio desplazado tal como se indica en el ejemplo 8. Luego se les inyectó a los animales en el área subplantar de la pata posterior izquierda 0,1 cc del adyutor microbacteriano descrito anteriormente. Se administraron inmediatamente, por vía oral, los compuestos que debían probarse siguiendo la inyección del adyutor microbacteriano y a continuación la administración tuvo lugar una vez cada día durante un total de 14 días, suspendida en agua que contenía pequeñas cantidades de agente tensoactivo ("Tween 80"), en concentraciones tales que la dosis que debía administrarse quedó contenida en 1 cc del vehícu-

413751



lo por 100 g de peso corporal. Un grupo de animales recibió únicamente el vehículo en calidad de controles sin tratar. Al cabo de 14 días se determinó de nuevo, en la forma antes descrita, el volumen de las patas posteriores inyectadas y no inyectadas, anotándose el aumento del volumen (hinchazón) y calculándose los resultados de los grupos de animales que habían recibido tratamiento en función de la reducción porcentual sobre los controles sin tratar, del modo anteriormente descrito. Todos los datos se expresaron como valores medios de un grupo dado de animales y se resumen en la Tabla 3 siguiente.

No se observaron muertes en ninguno de los grupos tratados durante el período de prueba, exceptuando el grupo que había recibido 5 mg/kg de indometacina en el que sucumbieron todos los animales durante el período de prueba.

TABLA 3

Tiempo transcurrido después de la inyección de adyutor micobacteriano, en días	Tratamiento y dosificación mg/kg	Volumen de la pata posterior izquierda (inyectada) +	Volumen de la pata posterior derecha (no inyectada) +	Aumento del volumen (hinchazón) +		Reducción porcentual de la hinchazón sobre los controles sin tratar	
				izq.	der.	izq.	der.
20.	sólo vehículo	23.3	23.2	-	-	-	-
		54.8	34.4	31.5	11.2	-	-
25.	Indometacina	22.4	22.4	-	-	-	-
	2.5 mg/kg	36.9	26.0	14.5	3.6	54%	68% ++
	Indometacina	-	-	-	-	-	-
	5.0 mg/kg	-	-	-	-	-	+++

413751



TABLA 3 (cont.)

	Tiempo transcurrido después de la inyección de adjutor micobacteriano, en días	Tratamiento y dosificación mg/kg	Volumen de la pata posterior izquierda (inyectada) +	Volumen de la pata posterior derecha (no inyectada) +	Aumento del volumen (hinchazón) +		Reducción porcentual de la hinchazón sobre los controles sin tratar	
					izq.	der.	izq.	der.
5.	0	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuran-butírico 12.5 mg/kg	23.0	23.0				
	14		40.0	28.0	17.0	5.0	46%	55% ++
10.	0	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuran-butírico 25 mg/kg	21.7	21.7				
	14		43.7	30.5	22.0	8.8	31%	21% ++
15.	0	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuran-butírico 50 mg/kg	21.4	21.4				
	14		38.2	25.7	16.8	4.3	47%	62% ++
	0	vehículo	21.8	21.8				
	14		55.8	29.2	34.0	7.4	-	-
20.	0	Fenilbutazona 400 mg/kg	21.0	21.0				
	14		35.0	23.5	14.0	2.4	58%	67% ++++
	0	Fenilbutazona 300 mg/kg	22.1	22.0				
	14		38.2	24.2	16.1	2.2	52%	70% ++++
25.	0	Fenilbutazona 200 mg/kg	23.1	23.1				
	14		40.8	27.0	17.7	3.9	47%	47% ++
	0	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuran-butírico 400 mg/kg	22.8	22.6				
	14		34.0	24.0	11.2	1.4	67%	81% ++

413751

- 38 -



TABLA 3 (cont.)

Tiempo transcurrido después de la inyección de adyutor microbacteriano, en días	Tratamiento y dosificación mg/kg	Volumen de la pata posterior izquierda (inyectada) +	Volumen de la pata posterior derecha (no inyectada) +	Aumento del volumen (hinchazón) +		Reducción porcentual de la hinchazón sobre los controles sin tratar		
				izq.	der.	izq.	der.	
5.	0	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuran-butírico	23.1	23.1				
	14	300 mg/kg	37.2	25.5	14.1	2.4	58%	67% ++
10.	0	Acido gamma-oxo-2-dibenzofuran-butírico	23.8	23.5				
	14	200 mg/kg	35.5	26.5	11.7	3.0	65%	59% ++

+ .- Expresado en gramos de mercurio desplazado

15. ++ .- No se observaron señales obvias de toxicidad o muertes durante el período de ensayo.

+++ .- Sucumbieron todos los animales durante el período de ensayo.

++++ .- De entre 8 animales sucumbieron 6 hasta el 14º día.

20. +++++ .- De entre 8 animales sucumbieron 4 hasta el 14º día.

EJEMPLO 11

Prueba para curar artritis establecida

25. La prueba se llevó a cabo de forma exactamente igual a la descrita en el ejemplo 10 sobre grupos de ratas albinas macho de 160 g de peso corporal cada una, a excepción de que la administración de los compuestos que debían probarse o del vehículo administrado solamente a los controles sin tratar, se inició únicamente 14 días después de la inyección del adyutor microbacteriano. Se determinó el volu-

413751

- 39 -



- men inicial de ambos miembros posteriores el 14º día y nueva-
mente el día 28º de la prueba, las dos veces de igual modo
que se ha descrito en el ejemplo 8. Se anotaron los aumentos
del volumen (hinchazón) y los resultados se calcularon del
5. mismo modo que se ha descrito en el ejemplo 10. De nuevo to-
dos los datos se calcularon como valores medios de un grupo
dado de animales y se resumen en la tabla 4 siguiente.

TABLA 4

Tiempo en días	Tratamiento mg/kg	Volumen de la pata pos- terior izquierda (inyect.) (+)	Volumen de la pata pos- terior derecha (sin iny.) (+)	Aumento del volumen (hinchazón) (+)		Reducción porcentual de la hinchazón	
				Pata post. izq.	Pata post. dcha.	Pata post. izq.	Pata post. dcha.
10. 14	sólo vehículo	64.2	33.8				
28		83.3	43.8	19.1	10.0	-	-
15. 14	Indometa- cina 2.5	63.2	33.3				
28		44.6	29.0	-18.6	- 4.3	197	143
20. 14	Indometa- cina 1.0	58.3	36.3				
28		55.6	30.4	- 2.7	- 5.9	114	159
25. 14	Fenilbuta- zona 100	59.3	31.2				
28		46.8	26.4	-12.5	- 4.8	165	148
14	Fenilbuta- zona 75	63.8	39.0				
28		50.3	31.0	-13.5	- 8.0	170	108
14	sólo vehículo	49.3	25.8				
28		72.7	35.0	23.4	9.2	-	-

413751

16 AD



TABLA 4 (cont.)

Tiempo en días	Tratamiento mg/kg	Volumen de la pata pos- terior izquierda (inyect.) (+)	Volumen de la pata pos- terior derecha (sin iny.) (+)	Aumento del volumen (hinchazón) (+)		Reducción porcentual de la hinchazón		
				Pata post. izq.	Pata post. dcha.	Pata post. izq.	Pata post. dcha.	
5.	14	Acido gamma -oxo-2-di- benzofuran -butírico	54.8	33.3				
	28	100	49.2	30.0	- 5.6	- 3.3	124	136
10.	14	Acido gamma -oxo-2-di- benzofuran -butírico	56.2	28.8				
	28	50	60.4	31.0	4.2	2.2	82	76
15.	14	Acido gamma -oxo-2-di- benzofuran -butírico	51.8	30.7				
	28	25	55.2	31.7	3.4	1	85	89

+ .- Expresado en gramos de mercurio desplazado

EJEMPLO 12Prueba de la actividad ulcerogénica

20. Ratas macho de unos 160 g de peso corporal se dividieron en grupos de 6 animales cada uno y se aislaron en jaulas individuales. Durante la prueba no se les suministró alimento ni tuvieron acceso al agua. Los compuestos que debían probarse se administraron por vía oral, suspendidos en agua que contenía pequeñas cantidades de un agente tensoactivo ("Tween 80"), cada día durante 3 días en concentraciones tales que la dosis que tenía que administrarse quedó contenida en 1 cc del vehículo por 100 g de peso corporal.
25. Los animales se sacrificaron el cuarto día y se determinó

413751

- 41 -



- el número y gravedad de las úlceras en el tracto gastroin -
testinal mediante inspección ocular, y fueron señalados
como sigue: las úlceras halladas se valoraron según el tama
ño y gravedad según 1, 2, 3 o 4. Se multiplicó el número de
5. úlceras encontradas en cada categoría de cada animal por
el valor respectivo y se dividió la suma de los resultados
obtenidos dentro de cada grupo experimental de animales por
el número de animales del grupo particular. La cifra resul
tante fué denominada el índice de úlcera. En esta prueba
10. los animales de control que recibieron solo el vehículo du
rante el período de la prueba desarrollaron unas pocas le
siones secundarias en el área fundal del estómago y una le
sión ocasional en el área glandular. Los resultados se re
sumen en la Tabla 5.

15.

TABLA 5

<u>Tratamiento</u>		<u>Índice de úlcera</u>
Solo vehículo		6
Indometacina, 20 mg/kg		14 +
Fenilbutazona, 100 mg/kg		13 +
Solo vehículo		4
25. Acido gamma-oxo-2-dibenzo furanbutirico	500 mg/kg	31 +
	400 mg/kg	18 +
	300 mg/kg	7
	200 mg/kg	9

+ - Aumento significativo del número y gravedad sobre los
controles.

EJEMPLO 13Prueba de la actividad antipirética.

413751

- 42 -



- Ratas albinas macho de unos 200 g de peso corporal, en grupos de 8 animales cada uno, se inyectaron por vía intravenosa con 0,2 cc de una dilución 1:2 de vacuna de Bordatella pertussis y se midió la temperatura del cuerpo con una sonda oral conectada a un termómetro. Los compuestos que debían probarse se administraron por vía oral, suspendidos en agua que contenía pequeñas cantidades de un agente tensoactivo ("Tween 80") en concentraciones tales que la dosis que debía administrarse quedó contenida en 1 cc de vehículo por 100 g de peso corporal, al mismo tiempo, aproximadamente, que la inyección de las vacunas y los controles sin tratar recibieron solo el vehículo. Se tomaron las temperaturas cada hora durante 6 horas y los resultados se resumen en la Tabla 6.

15.

TABLA 6

Tiempo de la lectura	Temperatura del cuerpo en grados centígrados		
	Solo vehículo	ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico 100 mg/kg.	Penilbutazona 100 mg/kg.
Inicial	37.6 ± 0.1	37.6 ± 0.06	37.6 ± 0.1
20. 1 hora después de la iny.	38.8 ± 0.1	37.9 ± 0.2	37.7 ± 0.4
2 id.	38.7 ± 0.1	37.8 ± 0.2	37.8 ± 0.2
3 "	38.7 ± 0.2	37.8 ± 0.1	37.8 ± 0.1
4 "	38.9 ± 0.2	37.9 ± 0.2	38.2 ± 0.7
25. 5 "	38.8 ± 0.3	37.8 ± 0.2	38.1 ± 0.2
6 "	39.0 ± 0.4	37.8 ± 0.2	37.9 ± 0.2

EJEMPLO 14Prueba de tolerancia de la droga.

Ratas albinas macho de unos 140 g de peso corpo-

413751



- ral se dividieron en grupos de diez animales cada uno y se enjaularon individualmente. Se administraron por vía oral los compuestos que debían probarse, en una suspensión de agua que contenía pequeñas cantidades de un agente tensioactivo ("Tween 80") en concentraciones tales que la dosis que debía administrarse quedó contenida en 1 cc del vehículo por 100 g de peso corporal, una vez cada día durante 30 días por lo menos y 40 días a lo sumo. Se determinaron los pesos corporales a intervalos regulares, se anotaron las muertes y al cabo del período de la prueba se sacrificaron los animales. Se efectuó un examen general y se pesaron las glándulas suprarrenales, los riñones, el estómago, los testes, el hígado, el corazón y la pituitaria y se examinaron visualmente el estómago y los intestinos en busca de señales de lesión. Los resultados se resumen en la Tabla 7.

TABLA 7

PARAMETRO	CONTROLES	ácido gamma-oxo-2-di-benzofuranbutírico 100 mg/kg diarios
20. Peso corporal en g; Inicial	144 ± 1	147 ± 2
El 16º día	177 ±	180
El 11º día	204 ±	194
El 15º día	244 ±	224
El 21º día	282 ±	268
El 23º día	340 ±	322
El 42º día	375 ± 8	351 ± 12
El corazón, en g.	1.23 ± 0.03	1.14 ± 0.1
Los riñones, en g.	2.51 ± 0.1	2.63 ± 0.1
El hígado, en g.	10.98 ± 0.8	13.6 ± 1.2
25. Los testes, en g.	3.05 ± 0.11	2.97 ± 0.1
Las suprarrenales, en mg	52.6 ± 4	43.8 ± 6.7
La pituitaria, en mg.	9.6 ± 0.8	9.3 ± 1.1
El estómago	Sin lesiones	Ligera irritación

EJEMPLO 15

Indice terapéutico.

413751

- 44 -



- Partiendo de los datos obtenidos en el ejemplo 10 se calculó un índice terapéutico para los compuestos sometidos a prueba dividiendo la dosis con la que resultó efectivo el compuesto en la prueba para la prevención de artritis (A) en la dosis tolerada para 14 días en el mismo ensayo (B). Los resultados se exponen en la Tabla 8.

TABLA 8

COMPUESTO	Dosis efectiva en la prevención de artritis Prueba (A)	Dosis tolerada durante 14 días en la prevención de artritis Prueba (B)	Índice terapéutico (B/A)
	mg/kg	mg/kg	
Indometacina	1.0	2.5	2.5
Fenilbutazona	75	<300	4
15. Acido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico	50	400	8

EJEMPLO 16Prueba para la actividad analgésica.

- La actividad analgésica del ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico se determinó en ratas hembras de conformidad con el método de Randall y Selitto, Arch. Intern. Pharmacodyn. 111, 409 (1957) según la modificación de Gilfoil Klavins y Grumbach, J. Pharmacol. Exp. Therap. 142, 1 (1963), y Winter y Flataker, J. Pharmacol, Exp. Therap. 150, 165 (1965). Se indujo la inflamación en una pata con una suspensión de levadura al 10%. Antes de la administración oral de la droga y 1 hora después se determino la presión necesaria tanto en la pata inflamada como en la normal para producir la vocalización (sensibilidad al do-

413751
lor).



Los resultados que se exponen en la Tabla 9 indican que, al igual que la fenilbutazona, el ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico aumenta el punto de sensibilidad al dolor en la pata inflamada pero no en la pata normal. El compuesto resultó ser activo en las pruebas analgésicas y antiinflamatorias con, aproximadamente, la misma gama de dosificación.

TABLA 9

10.

Droga	Dosis mg/kg per os	Nº de ratas por grupo	Alteración media a partir de controles, en mm de Hg.	
			Pata inflamada	Pata normal
Acido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico	200	6	+ 135	- 3
	100	7	+ 55	- 19
	50	15	+ 88	+ 30
	25	13	+ 18	- 7
	10	10	+ 6	- 11
Fenilbutazona	200	12	+ 88	- 8
	100	14	+ 73	- 3
	50	15	+ 65	- 4
	25	6	+ 51	+ 17
	10	10	+ 43	- 11

15.

20.

REIVINDICACIONES

Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente U.S.A.núm. 302.160 del 30 de octubre de 1972.

25.

1.- Un procedimiento para la purificación de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico por separación del mismo de una mezcla de dicho ácido, presente en una cantidad de, por lo menos, el 80% en peso de la mezcla, y de áci

ME

413751



do gamma-oxo-3-dibenzofuranbutirico, que comprende :

- (1) someter la mezcla de ácidos a condiciones de esterificación para obtener una mezcla de los ésteres alquílicos inferiores correspondientes,
5. (2) separar la mezcla de dichos ésteres para obtener el éster alquílico inferior de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico y el éster alquílico inferior de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico, y
- (3) someter el éster alquílico inferior de ácido 10. gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico a condiciones de hidrólisis para obtener su ácido correspondiente.
- 2.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la mezcla se esterifica por tratamiento con un alcohol inferior en presencia de un 15. catalizador de ácido.
- 3.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque el alcohol inferior es metanol y el catalizador de ácido es ácido clorhídrico.
- 4.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el éster alquílico inferior de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico se separa 20. de la mezcla de dichos ésteres mediante cromatografía en gel de sílice o alúmina neutra.
- 5.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el éster alquílico inferior de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutirico se separa 25. de la mezcla de dichos ésteres mediante cristalización fraccionada en un disolvente.
- 6.- Un procedimiento, de conformidad con la

ME

413751 - 47 - 413751



reivindicación 5, caracterizado porque el disolvente es tolueno o metanol y el éster alquílico inferior es el éster metílico.

5. 7.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la hidrólisis se efectúa mediante una base.

8.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque la base es hidróxido sódico o potásico.

10. 9.- Un procedimiento para la purificación de ácido gamma-oxo-2-dibenzofuranbutírico.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 47 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

15. Madrid, a 16 de abril de 1973.

p.a. JAIME ISERN

p. p.


Firmado: JOSE F. NIETO

MA.

ME