



425000

P.- 57.506

0857-77 Mő/pj  
Div.

FC. 19-1-76

Co 7c; Co 7d // AGIK

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de CHINOIN GYÓGYSZER-ÉS VEGYESZETI TERMÉKEK GYÁRA  
Rt.

entidad húngara

establecida en 1-5, Tó utca, Budapest, Hungría.

por: " PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE NUEVOS COMPUES-  
TOS DE ISOFLAVONA "  
(Clase Internacional Co7d)

13.5.74

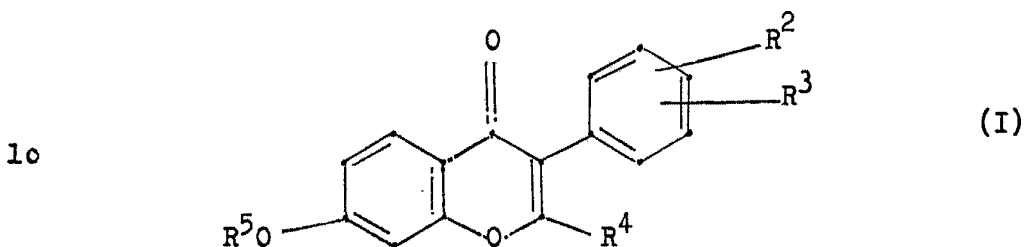
- 1 -

425300



El presente invento concierne a un procedimiento para la preparación de nuevos derivados de isoflavona con valiosas propiedades farmacológicas.

Los nuevos compuestos a preparar de acuerdo con el invento corresponden a la fórmula general



15 en donde  $R^2$  y  $R^3$  significan un átomo de hidrógeno, un grupo alcoxi, nitro, halógeno, sulfo o hidroxilo;  $R^4$  significa un átomo de hidrógeno, un grupo alcoholo o  $-COOH$ ; y  $R^5$  significa un grupo alcoholo o alqueno eventual-  
20 mente sustituido que contiene más de dos átomos de carbono. El grupo alcoholo o alqueno designado con  $R^5$  puede llevar en caso deseado, en calidad de sustituyentes, anillos aromáticos o heteroaromáticos, grupos dialcoholamino (ta-  
25 les como un grupo dimetilamino o dietilamino), un grupo carboetoxi, además grupos alcoxi, alcoholo o hidroxialcoholo. El anillo heterocíclico contiene preferiblemente un átomo de nitrógeno y lleva preferiblemente un grupo  
alcoxi, halógeno, alcoholo o  $-COOH$  como otros sustituyen-

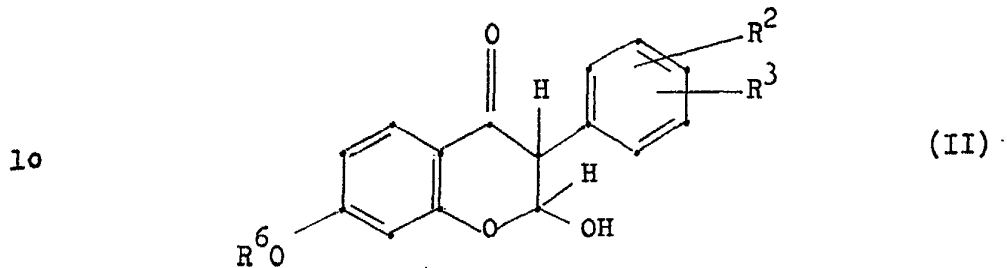
42560



tes.

El procedimiento para la preparación de los nuevos compuestos de la fórmula I está caracterizado porque se deshidratan derivados de 2-hidroxi-isoflavona de la fórmula general

5



15

en donde  $R^2$  y  $R^3$  tienen los significados antedichos y  $R^6$  representa  $R^5$  o hidrógeno o bien acilo, y después de ello se transforma eventualmente el grupo  $R^6$  en un grupo  $R^5$ .

La deshidratación se efectúa por calentamiento o mediante tratamiento térmico en un medio ácido en un disolvente polar.

20

En la primera etapa del procedimiento de acuerdo con el invento, a partir de los compuestos de la fórmula II pueden formarse derivados en los cuales el sustituyente  $R^6$  no es el grupo  $R^5$  deseado en el producto final. En tales casos se puede transformar al grupo  $R^6$  en el grupo  $R^5$ . Esto se puede llevar a cabo mediante una alcohol-

25

425000



5 ción parcial o completa de monohidroxi-isoflavonas o poli-  
hidroxi-isoflavonas. La alcoholación se puede llevar a ca-  
bo preferiblemente mediante la reacción con halogenuros  
de alcoholo o con halogenuros de alcoholo sustituidos,  
10 sulfatos de alcoholo, olefinas y epóxidos, calentando el  
agente de alcoholación en un disolvente apropiado, tal  
como cetonas, dimetilformamida o éteres con un número ele-  
vado de átomos de carbono, con las isoflavonas que han de  
ser alcoholadas, en el caso de compuestos halogenados pre-  
15 feriblemente en presencia de un agente fijador de ácidos  
(tal como un carbonato de metal alcalino) o en el caso de  
bromuros de alcoholo y cloruros de alcoholo preferiblemen-  
te en presencia de un yoduro de metal alcalino agregado.

15 Los compuestos de isoflavona que pueden obtener-  
se de acuerdo con el invento están con plena seguridad li-  
bres de efectos estrógenos. Los resultados de investigacio-  
nes llevadas a cabo en este sentido confirman que de acuer-  
do con el presente invento se acrecienta esencialmente el  
efecto de aumento del peso corporal de ciertos tipos de  
20 derivados de isoflavona - junto con simultánea disminución  
o eliminación total del efecto estrógeno - y que se supera  
significativamente al efecto acrecentador del peso corporal  
de los compuestos de isoflavona con manifiesto efecto es-  
trógeno.

25 Además se ha comprobado un nuevo efecto biológi-

25900



co extraordinariamente interesante, a saber el efecto  
acrecentador del peso corporal en un sector todavía no des-  
crito hasta ahora en la bibliografía - en el grupo de los  
compuestos de isoflavona que no poseen ningún efecto es-  
trógeno - . Además de este efecto, una parte considerable  
5 de los compuestos posee también un efecto anatóxico libre  
de efectos andrógenos (como consecuencia de la retención  
de N y basándose en el ensayo con el Musculus levator o  
de la medición del efecto reforzador de los músculos del  
10 esqueleto). La mayor parte de estos compuestos consistía  
en nuevos compuestos todavía no sintetizados hasta ahora.  
Se debe hacer resaltar además que ciertos compuestos de  
estos grupos de compuestos tienen un efecto que supera  
cualquier efecto acrecentador del peso corporal hasta  
15 ahora conocido, pero en otros aspectos son sustancias  
prácticamente inocuas con respecto al organismo vivo  
(DL<sub>50</sub> > 5 g/kg de peso corporal) bastante independientes  
de la composición del pienso, sintetizables a gran escala  
industrial de manera relativamente fácil y económica, es-  
20 tables, ilimitadamente almacenables, insípidas e inodoras.  
Ciertos miembros de este grupo de compuestos se pueden  
utilizar también para fines de cría de animales, tal como  
por ejemplo para aumentar la producción de leche, huevos  
y lana, en factorías piscícolas para aumentar la rentabi-  
25 lidad de la cría de peces, en la cría de animales para

225900



peletería, en la conservación de animales salvajes, etc.

En lo que se refiere al efecto de los compuestos obtenibles según el invento se deben hacer resaltar además las siguientes investigaciones farmacológicas que abajo se especifican.

5

Investigación del efecto anabólico:

La investigación se llevó a cabo con ratas castradas mediante ensayos con el Musculus levator ani y con la Vesicula seminalis. Los preparados fueron administrados por vía oral durante un período de investigación de tres semanas. Las investigaciones se llevaron a cabo de acuerdo con el método de Eisenberg y Gordan (Eisenberg, E., Gordan, G.S.J.: J. Pharmacol 99,38, 1950). Además, se pesaron también los diafragmas extraídos de los animales. De acuerdo con estas investigaciones, el peso del Musculus levator ani tuvo una elevación con el grado de importancia según Student de  $p < 0,01$ , el peso de la Vesicula seminalis no aumentó, mientras que el peso del diafragma extraído de los animales manifestó un aumento con un grado de importancia de  $p < 0,05$ . Basándose en estos datos, el preparado se manifestó como un agente anabólico sin efectos andrógenos.

10

15

20

Durante el tratamiento se administraron a los animales 30 mg/kg de sustancia activa.

25

La retención de nitrógeno fue investigada también

425900



con ensayos con ratas. Con un tratamiento sistemático se disminuyó la segregación de nitrógeno de los animales tratados en los días 20 ó 30 con un grado de importancia de p 0,05.

5 Las investigaciones arriba citadas confirman igualmente el efecto anabólico.

La investigación de la incorporación de la metionina marcada con S-35 mostró que bajo la acción del tratamiento la metionina es incorporada en el tejido muscular de los animales tratados en un grado acrecentado.

10

Para la investigación del efecto acrecentador de la actividad muscular se hizo uso del método de natación de ratas. Se hizo nadar a los animales con una carga de 3 kg/100 g de peso corporal, en agua a 29° C. El contenido de calorías y la cantidad de la sustancia nutricia administrada eran iguales que en el grupo testigo no tratado.

15

La diferencia de la duración de natación hasta el agotamiento de los animales tratados a lo largo de 45 días y hechos nadar diariamente, y de los animales del grupo testigo (que por lo demás habían sido tratados de manera enteramente igual, exceptuando la sustancia activa, no administrada en este caso) fue de 33 minutos, es decir el rendimiento natatorio en los animales del grupo testigo aumentó de 162 minutos a 196 minutos, mientras que en los animales tratados aumentó 162 minutos a 225 minutos.

20

25

425900



Estos ensayos se llevaron a cabo con administración de una dosis diaria de 5 mg/kg de peso corporal.

En otros ensayos se hizo posible eliminar parcialmente con las sustancias tratadas el efecto anticatabólico de la cortisona y se confirmó que los esteroides anabólicos, en la misma dosificación, no ejercen ningún efecto anabólico más intenso que los preparados utilizados.

En la investigación del análisis del peso corporal se confirmó que el aumento de la masa muscular es específicamente mayor que el de masa grasa, y que disminuye la cantidad de la grasa en el tejido muscular y aumenta la cantidad de las proteínas.

Los ensayos de toxicidad demostraron la total inocuidad del preparado. Según ello, en ensayos con ratones no se registró ningún caso de muerte durante un período de observación de 48 horas al administrarse una dosis de 4.000 mg/kg de peso corporal. Tampoco con una dosis subcutánea de 3.500 mg/kg de peso corporal se observó ningún caso letal.

En ensayos con ratas con una dosis de 3.500 mg/kg de peso corporal no se observó en 48 horas ninguna modificación apreciable y una administración subcutánea de 3.500 mg/kg de peso corporal dió resultados similares.

En ensayos con perros, una dosis de 3.500 mg/kg de peso corporal no provocó durante una semana de período de observación ninguna modificación apreciable.

425900

21 1970



5 Los ensayos de toxicidad subaguda se llevaron a cabo con ratas. En ellos con una dosificación por vía oral diaria de 200 mg/kg de peso corporal y 500 mg/kg de peso corporal no se comprobó ninguna modificación durante un período de la observación de un mes.

Se obtuvieron resultados similares en el caso de investigaciones subagudas con ratones.

10 Los ensayos de toxicidad crónica cin ratas y perros ya se están realizando actualmente. Hasta ahora se han terminado las investigaciones de toxicidad crónica trimestral. En el caso de una administración diaria de dosificaciones de 100 mg/kg de peso corporal o de 10 mg/kg de peso corporal que ha durado 3 meses no se manifestó ninguna modificación ni en ratas machos ni tampoco en ratas hembras (investigación completa de la sangre, experimentos

15 histológicos y otros experimentos clínicos.

Se produjeron resultados similarmente negativos en los ensayos de toxicidad con perros, después de terminado el primer período trimestral (en dosificaciones de 20

20 mg/kg de peso corporal y de 50 mg/kg de peso corporal).

El efecto estrógeno de los compuestos fue investigado mediante el experimento con el útero de ratones infantiles, con una administración por vía oral o subcutánea. En los compuestos no se comprobó ningún efecto estrógeno.

25 En gallinas, las glándulas endócrinas, después de una administración durante 30 días de 5 mg/kg de peso

425900



corporal, fueron sometidas a una investigación histológica detallada, pero tampoco se pudo comprobar ninguna modificación histológica apreciable.

5 El efecto acrecentador del peso corporal era, con una concentración de 2 g de sustancia activa por 100 kg de pienso en las diferentes especies de animales, el siguiente:

	En terneros	8 - 15%
	En ganado vacuno	7 - 10%
10	En cerdos	7 - 10%
	En gallinas	8 - 20%
	En conejos	10 - 20%
	En cobayas	8 - 12%

15 El período de administración varió entre 1 y 4 meses, dependiendo de la especie de animales y de las condiciones de cría. Durante el período de administración del pienso, los animales de ensayo no consumieron más pienso que los animales testigo; en lugar de ello, en algunos casos se manifestó un ahorro de pienso totalmente independiente del efecto acrecentador del peso.

20 En el tratamiento se pudo observar que los animales tratados disponían de una mayor vitalidad, y que el aumento de peso fue causado principalmente por el aumento de la masa muscular. Esto se puso de manifiesto especialmente en el cebado o alimentación de cerdos, siendo, en el

425900



caso de cerdos para carne significativamente mayor la proporción de los cerdos más pobres en grasa de clase A.

5 En el caso de las ratas se investigó especialmente también el efecto sobre órganos de reproducción. La capacidad reproductora y el número de animales por camada fueron iguales en el caso de las ratas machos y hembras tratadas con la substancia activa que en el caso de los grupos testigo.

10 También se investigaron la resorción y la segregación de isoflavonas marcadas con C-14. Se comprobó en estos casos que la resorción, tanto en el caso de administración por vía intramuscular como también en el caso de administración por vía oral se realiza de manera bastante rápida. Después de una administración por vía oral la  
15 segregación se efectúa en la mitad en la orina y en la mitad en las heces.

En muchos órganos se encontró una actividad detectable radiográficamente 48 horas después de haberse terminado el tratamiento.

20 De acuerdo con extensas investigaciones farmacológicas y biológicas se encontró con sorpresa que compuestos - que tienen una estructura química enteramente afin a la de los compuestos con efecto anabólico - poseen un efecto catabólico que disminuye el grado de aprovechamiento de las sustancias nutricias y provocan una dismi-  
25

425900



nución del peso corporal. Estos compuestos no poseen ninguna considerable toxicidad.

5 Los compuestos ejercen el efecto catabólico también en pequeñas concentraciones (por ejemplo de 0,0001-0,1%, calculado con respecto al peso del pienso). El efecto catabólico puede ser aprovechado en primer término en la medicina humana. Los compuestos con efecto catabólico son excelentes agentes moderadores del apetito, que no influyen sobre la actividad cardiaca, sobre la circulación ni sobre el sistema nervioso.

10

Pollitos, conejos y ratas, que habían sido alimentados con un pienso que contenía los compuestos antedichos en una concentración de 2 g/100 kg, muestran, con un consumo idéntico de pienso, un aumento del peso corporal menor en 8 a 20% que el de los animales testigo.

15

Otra característica del efecto anabólico es el efecto retentor de calcio y de fosfato. Estas investigaciones se llevaron a cabo con carneros y ratas jóvenes y se comprobó que con una dosis de 20 mg/kg de peso corporal el preparado aumenta muy significativamente el efecto retentor de calcio y de fosfato.

20

Por lo demás, en esta serie de ensayos se confirmó también el efecto retentor de potasio y de nitrógeno.

La esencialidad del método consiste en que en el caso de animales que son llevados a equilibrio en lo que

25

425900



se refiere al metabolismo de calcio, fosfato, potasio o nitrógeno, el intercambio de iones total citado fue controlado antes y después del tratamiento.

5 La determinación de los iones metálicos en el pienso y en los excrementos se efectuó por fotometría con llama /descomposición/destrucción; en la orina y en el agua potable se efectuó por fotometría en llama inmediatamente después de dilución. El contenido de fósforo inorgánico se determinó de acuerdo con el método de Fiske-  
10 Subbarow y el contenido de nitrógeno fue determinado de acuerdo con el micrométodo de Kjeldahl. El efecto retentor de calcio fue determinado en el caso de ratas también por el método de isótopos.

15 Después de estas investigaciones se realizó el ensayo del preparado en la osteoporosis inmovilizadora, o en la osteoporosis de origen endocrino. También en este caso se hizo posible confirmar el efecto retentor de calcio con una dosis diaria de 300 mg por día.

20 Las afecciones subjetivas de los pacientes y también la sensación de dolor fueron disminuidas esencialmente.

El invento es explicado con mayor detalle con ayuda de los siguientes ejemplos:

25 Ejemplo 1: 18 g de 2-hidroxi-4-isopropoxi-fenilbencil-cetona son disueltos en 150 ml de formiato de etilo,

425900



después de lo cual se añaden a la solución, en pequeñas porciones, con enfriamiento, 9 g de sodio en forma de polvo. La mezcla es dejada reposar durante algunas horas, después de lo cual se descompone con agua y se la neutraliza cuidadosamente. El precipitado separado es filtrado, lavado con agua y secado. La mezcla obtenida de los estereoisómeros de 2-hidroxi-7-isopropoxi-isoflavon-4-ona muestra un intervalo de puntos de fusión a partir de 120°C con formación de espuma. El producto obtenido es calentado a ebullición durante 15 minutos con una mezcla de 50 ml de ácido acético glacial y 5 ml de ácido clorhídrico concentrado. El punto de fusión de la 7-isopropiloxi-isoflavona cristalina, blanca como la nieve, es de 115 a 117°C .

Ejemplo 2: 20 g de 2-hidroxi-4-isobutoxi-fenilbencil-cetona son disueltos en 150 ml de formiato de etilo, después de lo cual se añaden a la solución en pequeñas porciones, con enfriamiento, 9 g de sodio en forma de polvo. La mezcla es dejada reposar durante algunas horas, es descompuesta con agua y neutralizada cuidadosamente. El precipitado obtenido es filtrado, lavado con agua y secado. La mezcla obtenida de los estereoisómeros de 2-hidroxi-7-isobutoxi-isoflavon-4-ona muestra un intervalo de puntos de fusión a partir de 130°C con formación de espuma. El producto obtenido es calentado a ebullición durante 15 minutos con una mezcla de 50 ml de ácido acético glacial y

425900



5 ml de ácido clorhídrico concentrado. El punto de fusión de la 7-isobutoxi-isoflavona blanca como la nieve, cristalina, obtenida es de 148 a 150°C.

5 La presente solicitud que corresponde a la presentada en Hungría, el 27 de Mayo de 1970, con el número CI-996, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

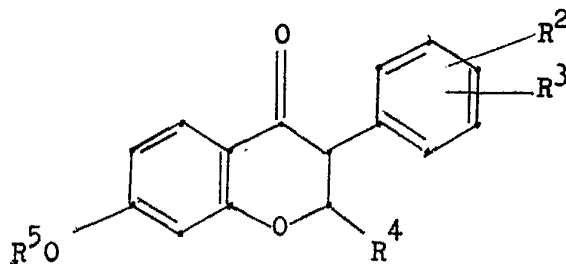
10

#### REIVINDICACIONES

15 Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

1ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos compuestos de isoflavona de la fórmula general

20



(I)

25

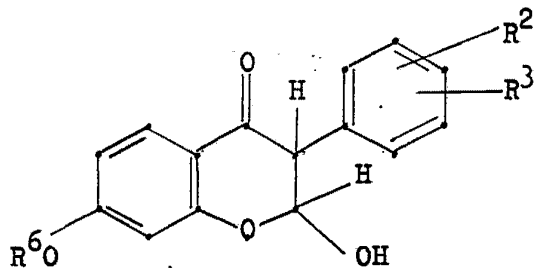
13.5.74

425900



en donde  $R^2$  y  $R^3$  significan un átomo de hidrógeno, un  
 grupo alcoxi, nitro, halógeno, sulfo o hidroxilo,  $R^4$  signi-  
 fica un átomo de hidrógeno, un grupo alcohilo o  $\text{COOH}$ , y  
 $R^5$  significa un grupo alcohilo o alqueniilo eventualmente  
 5 sustituido que contiene más de dos átomos de carbono, ca-  
 racterizado porque se deshidratan derivados de 2-hidroxi-  
 isoflavona de la fórmula general

10



(II)

15

en donde  $R^2$  y  $R^3$  tienen los significados antedichos y  $R^6$   
 representa  $R^5$  o hidrógeno o bien acilo, y después de ello  
 se transforma eventualmente el grupo  $R^6$  en un grupo  $R^5$ .

20

2ª.- Procedimiento para la preparación de nuevos  
 compuestos de isoflavona .

Tal y como se ha descrito en la Memoria que an-  
 tecede y para los fines que se han especificado.

13.5.47

425900



Esta Memoria consta de diecisiete hojas escritas  
a máquina por una sola cara.

Madrid, 21 Mayo 1974

P.A.

Alberto de Ezaburo  
Por medio de *Arta*

13.5.74  
MTR.

M/