



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 281 518**

51 Int. Cl.:
C07D 407/12 (2006.01)
A61K 31/375 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02733329 .3**
86 Fecha de presentación : **05.06.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1394161**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **03.03.2004**

54 Título: **Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol 1-propanol y procedimiento para producirlo.**

30 Prioridad: **06.06.2001 JP 2001-171559**

73 Titular/es: **Senju Pharmaceutical Co., Ltd.**
5-8, Hiranomachi 2-chome
Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 541-0046, JP

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.10.2007

72 Inventor/es: **Ogata, Kazumi;**
Saito, Noriko;
Yamada, Kazuhiko y
Maruyama, Genta

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.10.2007

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 281 518 T3

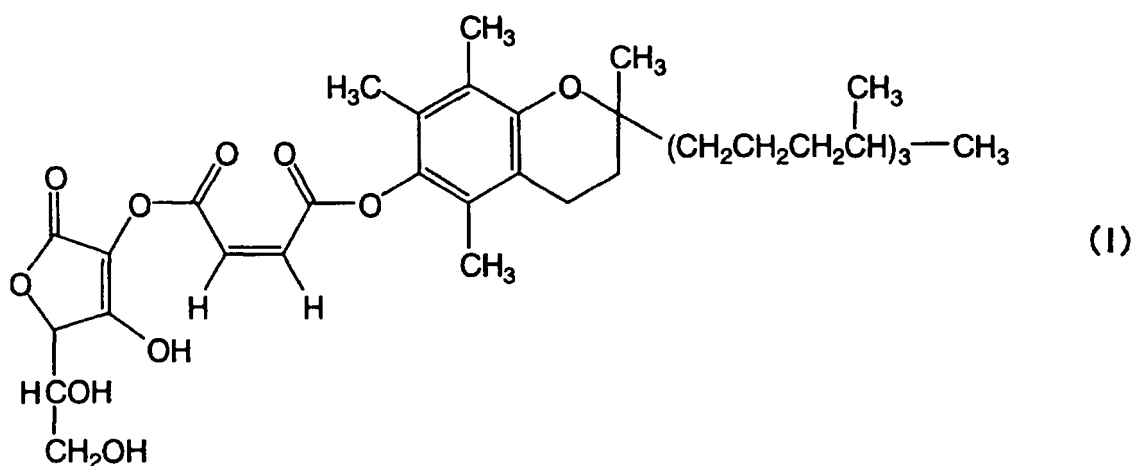
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol 1-propanol y procedimiento para producirlo.

La presente invención se refiere a un aducto nuevo y útil de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol y a sus sales farmacológicamente aceptables, a procedimientos para su producción y a usos de los mismos como componente o ingrediente cosmético, antioxidante, captador de radicales, agente antiinflamatorio o inhibidor de elastasa.

El documento WO-A-0104114 describe diésteres del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol representados por la siguiente fórmula (I):



y su uso como un ingrediente cosmético, antioxidante, captador de radicales o agente antiinflamatorio.

No obstante, el procedimiento que se describe en el documento WO-A-0104114 proporciona diésteres del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol que son difíciles de cristalizar e incluso cuando cristalizan son difíciles de filtrar, y tienen una estabilidad inferior. El procedimiento no es adecuado para usar a escala comercial. Por tanto, existe una fuerte demanda de un procedimiento de cristalización para diésteres del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol que pueda eliminar dichos defectos.

Los autores de la presente invención han descubierto que el tratamiento después de la reacción con 1-propanol o una mezcla en solución de 1-propanol con un disolvente orgánico puede proporcionar diésteres del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol que tienen una mejor cristalinidad y una capacidad para filtrarse mejorada y que el aducto con 1-propanol obtenido de este modo tiene una estabilidad excelente.

El procedimiento para producir diésteres del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol descrito en el documento WO-A-0104114 usa etanol en la etapa de purificación y proporciona aductos con etanol cristalizados de dichos diésteres, que se considera están limpios del alcohol (desalcoholización) por un secado posterior a presión reducida.

Se ha descubierto que el uso de un alcohol puede permitir cristalizar los diésteres del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol mediante la adición de un alcohol. El alcohol se puede usar solo, pero con preferencia se usa en combinación con uno o dos o más de n-hexano, ciclohexano y éter de petróleo. Se ha descubierto que estos aductos con alcohol cristalinizados están limpios del alcohol (desalcoholización), cuando se secan a aproximadamente 60°C a presión reducida, pero permanecen intactos en la forma de un aducto con alcohol consistente en 1 mol de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol y 1 mol de un alcohol, cuando se secan a una temperatura cercana a 30°C. 1-propanol o 1-butanol pueden proporcionar la menor cristalinidad a los aductos producto, mientras que 2-propanol tiene el defecto de menores rendimientos de producción puesto que los diésteres del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol son más solubles en el mismo. Metanol o butanol no son deseables en términos de toxicidad y olor desagradable, respectivamente. La comparación entre aductos con etanol y 1-propanol muestra que el aducto con 1-propanol es con mucho superior al etanol en estabilidad térmica.

Las sales farmacológicamente aceptables de la presente invención están ejemplificadas por sus sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio y potasio, y sus sales de metales alcalinotérreos, tales como sus sales de calcio y de magnesio, y pueden incluir cualquier otra sal, solo si éstas son farmacológicamente aceptables.

ES 2 281 518 T3

El aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol de la presente invención (“el aducto”) se puede sintetizar, por ejemplo, por el siguiente procedimiento o por cualquier procedimiento similar:

5 El ácido maleico monotocoferol y el ácido ascórbico que tienen los grupos hidroxilo protegidos en las posiciones 5 y 6 se hace reaccionar en un disolvente muy polar en presencia de una base tal como compuestos carbonato alcalinos o trietilamina, para llevar a cabo la esterificación por el procedimiento de anhídrido de ácido mixto, seguido por la retirada de los grupos protectores con un ácido para dar el diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol que fundamentalmente tiene una unión éster en la posición 2 del ácido ascórbico. Ejemplos del disolvente muy polar incluyen dimetil sulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF) y acetonitrilo, mientras que los compuestos carbonato alcalinos incluyen, por ejemplo, carbonato sódico y carbonato potásico. Una solución que contiene un compuesto diéster como el obtenido de este modo se somete a extracción con un disolvente de extracción, tal como cloroformo y acetato de etilo y, después de separar por destilación el disolvente de extracción, el residuo resultante se mezcla con 1-propanol o una mezcla en solución de 1-propanol con un disolvente orgánico tal como uno o dos o más de, por ejemplo, n-hexano, ciclohexano y éter de petróleo, permitiendo que el aducto cristalice.

15 El aducto obtenido por este procedimiento se puede convertir en sus sales farmacológicamente aceptables por procedimientos conocidos de forma convencional. La conversión en tales sales se puede efectuar después de aislar en la solución de reacción o directamente sin dicho aislamiento.

20 El ácido maleico monotocoferol, que es un compuesto de partida para el aducto y sus sales farmacéuticamente aceptables (“los aductos”) se puede sintetizar por el procedimiento descrito en el documento WO-A-9933818 (solicitud internacional nº PCT/JP98/05765) o por un procedimiento similar.

25 El ácido ascórbico que tiene grupos protectores en los grupos hidroxilo en las posiciones 5 y 6, que es otro compuesto de partida, se puede sintetizar por procedimientos conocidos, tales como los que se describen en los documentos JP-B-2-44478 y JP-B-5-23274, o en procedimientos similares. Los grupos protectores para los grupos hidroxilo en las posiciones 5 y 6 del ácido ascórbico incluyen, por ejemplo, grupos acilo tales como isopropilideno y grupos bencilideno, usándose corrientemente el grupo isopropilideno. Estos grupos protectores se pueden retirar fácilmente acidificando la solución de reacción. Para dicha acidificación, se pueden utilizar, por ejemplo, ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido fosfórico y ácido sulfúrico y ácidos orgánicos, tales como ácido acético y ácido cítrico.

30 Los aductos, que poseen actividad antiinflamatoria, actividad antioxidante, actividad captadora de radicales y actividad inhibidora de elastasa, están destinados específicamente al uso en supresión de eritema o enrojecimiento causados por radiación ultravioleta, prevención del bronceado solar causada por la radiación ultravioleta y el embellecimiento cutáneo, blanqueamiento cutáneo (por ejemplo, prevención de la deposición de pigmentos de melanina que causa, por ejemplo, manchas y pecas) y prevención de arrugas así como en la estabilización de varios ingredientes cosméticos y, por consiguiente, se pueden añadir adecuadamente a cosméticos tales como cremas, lociones y lociones cutáneas.

40 En la formulación de aductos en cosméticos, puede ser adecuado añadir diversos ingredientes que se usan corrientemente para cosméticos. Tales ingredientes pueden incluir, por ejemplo, ácido nicotínico y derivados, tales como ácido nicotínico, nicotinamida y nicotinato de bencilo; vitamina A y derivados tales como retinol, acetato de retinilo y aceites de vitamina A; vitamina B₂ y derivados, tales como riboflavina, acetato de riboflavina y flavina adenina dinucleótido; vitamina B₆ y derivados, tales como hidrocloreuro de piridoxina y dioctanoato de piridoxina; vitamina C y derivados, tales como ácido L-ascórbico, ácido L-ascórbico-2-sulfato sódico y dipalmitado de L-ascorbilo; ácido pantoténico y derivados, tales como pantotenato de calcio, éter etílico de pantotenilo, alcohol D-pantenílico y éter etílico de acetilpantotenilo; vitamina D y derivados, tales como colecalciferol y ergocalciferol; vitamina E y derivados, tales como α -tocoferol, acetato de tocoferol, nicotinato de DL- α -tocoferilo y succinato de DL- α -tocoferilo; varias vitaminas; aminoácidos, tales como glicina, alanina, fenilalanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, asparagina, ácido aspártico, aspartatos, glutamina, ácido glutámico, glutamatos, lisina, metionina, cisteína, cistina, arginina, histidina, triptofano, prolina e hidroxiprolina; sales de aminoácidos ácidos N-acilados tales como de N-ácido graso de aceite de coco L-glutamato sódico y N-palmitoil-L-aspartato de dietilo; sales de aminoácidos neutros acilados tales como lauroilmetil- β -alanina de sodio y ácido graso de aceite de coco succinotrietanolamina; ácido pirrolidioncarboxílico y sus sales; derivados de aminoácidos, tales como monopiroglutamato monoisostearato diéster de aceite de ricino endurecido polioxietilenado y ácido graso de aceite de coco-L-arginina etil éster-DL-pirrolidona carboxilato; aceites tales como aceite de salvado de arroz, aceite de cacahuete, aceite de palma, sebo de ternera, grasa de aguacate, aceite de yoyoba, lanolina, parafina líquida, escualeno, cera de carnauba, alcohol isosteárfico, palmitato de isosteárfico y tri-2-etilhexanoato de glicerilo; alcoholes polihidroxilados tales como glicerol, sorbitol, manitol y 1,3-butilenglicol; éteres de alcoholes polihidroxilados tales como polietilenglicol; polisacáridos mucicos tales como colágeno, hialuronato sódico, condroitinsulfato sódico y dextrano sulfato sódico; antioxidantes tales como p-hidroxianisol y eritorbato sódico; derivados de la celulosa tales como polímero de carboxivinilo, carboximetilcelulosa e hidroxipropil metilcelulosa; tensioactivos tales como estearilsulfato sódico, dietanolamina cetilsulfato, cetil trimetilamonio sacarina, isosteárfico polietileno glicol, isosteárfico de diglicerilo y fosfolípidos; conservantes tales como etilparabeno, propilparabeno y butilparabeno; agentes antiinflamatorios tales como hinokitilol, derivados de ácido salicílico, derivados del ácido glicirrizínico, derivados del ácido glicirrético, alantoína y óxido de cinc; y diversos agentes como reguladores del pH, tampones, perfumes y colorantes.

ES 2 281 518 T3

En casos en los que los aductos se usen en cosméticos, éstos se formularán normalmente en una proporción de 0,001 a 5 (p/p)%, con preferencia de 0,005 a 2 (p/p)%, aunque tales proporciones pueden variar dependiendo de los aductos, el tipo de cosmético que se esté procesando por formulación y el objeto de la formulación.

5 Los aductos presentan actividad antiinflamatoria como se ha descrito antes y los trastornos inflamatorios particulares que se van a tratar con los aductos incluyen, por ejemplo, hemorroides, artritis reumatoide crónica, reumatismo deformans, espondilitis deformans, artritis deformans, dolor lumbar, inicio de gota, otitis media aguda, cistitis, prostatitis, odontalgia, conjuntivitis, queratitis, iridociclitis, uveitis y sinusitis.

10 Los aductos se pueden administrar por vía oral o parenteral como un agente antiinflamatorio y se pueden procesar en cualquier forma de dosificación, tal como preparaciones farmacéuticas sólidas que pueden ejemplificarse por comprimidos, granulados, polvos y cápsulas o preparaciones farmacéuticas líquidas que se ejemplifican por inyecciones y soluciones oftálmicas, por procedimientos conocidos de forma convencional. Se pueden usar adecuadamente en tales formas de dosificación una diversidad de aditivos usados normalmente o auxiliares farmacéuticos, tales como excipientes, ligantes, espesantes, dispersantes, promotores de reabsorción, tampones, tensioactivos, solubilizantes, conservantes, emulsionantes, agentes de tonicidad, estabilizantes y reguladores del pH.

20 En el uso de los aductos como un agente antiinflamatorio, la dosis puede variar dependiendo del peso corporal y la edad del paciente, el tipo y estado del trastorno a tratar y el procedimiento de administración, y éstos se pueden administrar deseablemente a pacientes adultos en dosis que varían desde 1 mg a 30 mg una vez al día en el caso de inyecciones y en dosis que varían desde 1 mg a 100 mg cada vez y varias veces al día en el caso de medicamentos para uso interno. En el caso de soluciones oftálmicas, una solución oftálmica de una concentración que varía desde 0,01 a 5 (p/v)% se instila preferiblemente o se aplica tópicamente al ojo de un paciente adulto en varias gotas cada vez y varias veces al día.

25 Cuando se usan como agentes antiinflamatorios, los aductos se pueden incorporar con cualquier otro agente antiinflamatorio o diferentes tipos de agentes activos, a no ser que estén contraindicados con el propósito de la presente invención.

30 A continuación se presentan ejemplos de la presente invención.

La Figura 1 del dibujo muestra la asignación del espectro de resonancia magnética nuclear del aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol y la fórmula estructural determinada del mismo.

35 Ejemplo 1

Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol

40 (1) Síntesis

Se añade un volumen de 400 ml de acetona a 63,0 g de dl- α -tocoferol, 40,0 g de anhídrido maleico y 20 g de acetato sódico, seguido por calentamiento durante 1 hora a reflujo con agitación, y se elimina la acetona por destilación. El residuo resultante se mezcla con 500 ml de éter diisopropílico, 200 ml de ácido clorhídrico 1N y 100 ml de agua y la mezcla se agita durante un corto período de tiempo. La fase orgánica se separa, se lava dos veces con agua y se limpia el éter diisopropílico dando 77,6 g de ácido maleico mono- α -tocoferol en forma de una sustancia oleosa residual (que cristaliza en reposo).

45 La sustancia se disuelve en 400 ml de cloroformo y se añaden 17,8 g de trietilamina, seguido por enfriamiento. Se añaden gradualmente gota a gota 17,4 ml de clorocarbonato de etilo a la mezcla en solución con agitación y 10 minutos después de completarse la adición gota a gota se añade rápidamente una solución de 41,7 g de ácido 5,6-isopropilidenascórbico y 21,0 g de trietilamina en 450 ml de acetonitrilo, seguido por agitación durante 15 minutos y luego durante 30 minutos a una temperatura incrementada hasta 5°C. La solución de reacción se acidifica con 120 ml de ácido clorhídrico 2N y se limpia de los disolventes a presión reducida, y el residuo resultante se extrae con 500 ml de acetato de etilo. El extracto se lava con agua y el acetato de etilo se elimina por destilación dando una sustancia oleosa residual (aproximadamente 105 g).

55 La sustancia oleosa residual obtenida de este modo se mezcla con 400 ml de etanol y 100 ml de ácido clorhídrico 2N, seguido por agitación durante 20 minutos a 60°C para retirar el grupo protector. Después de eliminar el etanol por destilación a presión reducida, el residuo resultante se somete a extracción con 500 ml de acetato de etilo y el extracto se lava con agua y se limpia del acetato de etilo. La sustancia oleosa residual resultante se mezcla con 100 ml de 1-propanol y 300 ml de n-hexano, seguido por enfriamiento y los cristales blancos que cristalizan se recuperan por filtración y recristalizan en 1-propanol/n-hexano, seguido por secado a 30°C a presión reducida dando 48,5 g de aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol, p.f. 86 a 87°C.

65

ES 2 281 518 T3

(2) *Propiedades físico-químicas*

(1) Espectro de resonancia magnética nuclear

5 En la Figura 1 se muestra la asignación del espectro de resonancia magnética nuclear y la fórmula estructural determinada.

(2) Espectro de absorción infrarroja

10 IR: 2927, 1754 y 1679 cm^{-1} (el procedimiento de KBr).

(3) Cromatografía de gases

15 Se determinó que el contenido de aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol era del 8,0% (valor que corresponde a 1 mol de 1-isopropanol por 1 mol de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol) por cromatografía de gases.

Procedimiento de determinación para el contenido de 1-propanol

20 Se pesó con exactitud una cantidad de 0,1 g del aducto (W_T g), y se disolvió en alcohol bencílico, llevando de este modo el volumen de forma exacta hasta 10 ml. Se midió de forma exacta un volumen de 2 ml de la solución y se mezcló con alcohol bencílico para llevar todo el volumen de forma exacta hasta 20 ml. La solución se considera una solución de ensayo. Por separado, se pesa con exactitud aproximadamente 1 g (W_S g) de 1-propanol en un cilindro graduado que tiene aproximadamente 5 ml de alcohol bencílico introducido con antelación en el mismo, y se mezcla
25 con alcohol bencílico para llevar el volumen con exactitud hasta 20 ml, de los cuales 4 ml se miden con exactitud y se mezclan con alcohol bencílico para llevar el volumen de forma exacta hasta 20 ml. Se miden con exactitud 2 ml de la solución y se mezclan con alcohol bencílico para llevar el volumen de forma exacta hasta 20 ml, de los cuales 2 ml se miden con exactitud y se mezclan con alcohol bencílico para llevar el volumen total de forma precisa hasta 25 ml. La solución se considera una solución patrón.

30 Se toman un volumen de 1 μl de cada una de la solución de ensayo de de la solución patrón para ensayar por el procedimiento de cromatografía de gases en las siguientes condiciones:

35 Se miden las áreas A_T y A_S de los picos para 1-propanol proporcionados individualmente por la solución de ensayo y la solución patrón mediante un procedimiento de análisis automático, y se calcula la cantidad de 1-propanol por la siguiente ecuación:

$$\text{Cantidad (\%)} \text{ de 1 - propanol} = A_T/A_S \times W_s/W_T \times 0,8$$

40 *Condiciones de operación*

Condiciones de ensayo

| | | |
|----|--|--|
| 45 | Detector | : Detector de ionización a la llama de hidrógeno |
| | Precolumna | : SBP-5, 0,53 mm de d.i. X 5 m, espesor de película, 0,5 μm (fabricada por Supelco Co.) |
| 50 | Columna | : SBP-5, 0,53 mm de d.i. X 30 m, espesor de película, 0,5 μm (fabricada por Supelco Co.) |
| | Temperatura de la columna | : Mantenido a 35°C durante 10 min después de la inyección de una muestra, luego elevada a una velocidad de 8°C/min hasta 175°C y a una velocidad de 35°C/min hasta 260°C durante 16 minutos. |
| 55 | Temperatura de entrada en la inyección | : 180°C |
| | Temperatura del detector | : 260°C |
| 60 | Gas portador | : helio |
| | Caudal | : 35 cm/min |

65

ES 2 281 518 T3

(4) Valores del análisis elemental

| | | |
|---|--------------------------|------------------------------------|
| | Análisis elemental, para | $C_{39}H_{58}O_{10} \cdot C_3H_8O$ |
| 5 | Calculado (%): | C, 67,37; H, 8,91 |
| | Encontrado (%): | C, 67,02; H, 8,99 |

(5) Análisis de rayos X de polvo

10 El análisis de rayos X de polvo indica que el aducto muestra una absorción de rayos X intrínseca que tiene un pico que no es ruido. Esto conduce a la conclusión de que el aducto tiene una estructura cristalina firme.

Ejemplo 2

15 *Loción cutánea*

| | | |
|----|--|-------------------|
| | Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol | : 0,2 g |
| | Polivinilpirrolidona | : 1,0 g |
| 20 | Aceite de ricino endurecido polioxietilenado (HCO-60) | : 1,0 g |
| | Etanol | : 15 ml |
| | Trietanolamina | : Cantidad aprop. |
| | p-oxibenzoato de metilo | : 0,1 g |
| 25 | p-oxibenzoato de propilo | : 0,05 g |
| | Agua purificada esterilizada | : c. s. p. 100 ml |

Los ingredientes anteriormente citados se mezclan de forma convencional para preparar una loción cutánea.

30

Ejemplo 3

Comprimido para administración interna

| | | |
|----|--|---------|
| 35 | Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol | : 30 mg |
| | Lactosa | : 80 mg |
| | Almidón de patata | : 17 mg |
| 40 | Polietilenglicol 6000 | : 3 mg |

Los ingredientes anteriormente citados se comprimen en un comprimido de la forma convencional.

45 Ejemplo 4

Cosmético

| | | |
|----|--|------------------------------------|
| | Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol | : 0,5 g |
| 50 | Aceite de oliva | : c. s. p. 100 ml de volumen total |

Los ingredientes anteriormente citados se mezclan hasta una mezcla en solución de forma convencional para preparar un cosmético oleoso.

55

Ejemplo de referencia 1

Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-etanol

60

Siguiendo el mismo procedimiento que se describe en el Ejemplo 1, se lleva a cabo la reacción usando 46,0 g de dl- α -tocoferol, y se lleva a cabo el tratamiento posterior a la reacción y recristalización reemplazando etanol por 1-propanol dando 46,0 g del compuesto aducto con etanol de p.f., 86-88°C.

65

ES 2 281 518 T3

Ejemplo experimental 1

Ensayo de estabilidad

5 Se evaluaron las estabildades al almacenamiento del aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-etanol y el aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol determinando, por cromatografía de líquidos, sus relaciones residuales después de almacenamiento durante 4 semanas a 40°C y 50°C.

10 Las condiciones experimentales son como sigue:

Detector : Absorptiómetro ultravioleta (longitud de onda: 220 nm)

15 Columna : Un tubo de acero inoxidable de 6 mm de DI y 15 cm de longitud relleno con gel de sílice octadecilada de 5-10 μ m de tamaño de partículas diseñada para usar en cromatografía de líquidos.

Temperatura : 40°C

20 Fase móvil : Se preparó disolviendo 0,4 g de dihidrogenofosfato sódico cristalino y 0,3 g de cloruro sódico en 50 ml de agua y añadiendo 500 ml de metanol y 450 ml de acetonitrilo, seguido por adición de ácido fosfórico para ajustar a pH 4,0.

Caudal : Se reguló de modo que el tiempo de retención puede ser de aproximadamente 12 min.

25

Los resultados se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1

30

| | Temp. | Aducto con 1-propanol (Ejemplo 1) | Aducto con etanol (Ejemplo 2) |
|-------------------|-------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Relación residual | 4°C | 99,3% | 99,7% |
| | 40°C | 99,0% | 90,9% |
| | 50°C | 93,9% | 81,7% |

35

40

45 Como es evidente de la Tabla 1, la estabilidad al almacenamiento del aducto con 1-propanol es superior a la del aducto con etanol.

Ejemplo experimental 2

Actividad inhibidora de elastasa

50

55 Las elastinas son las proteínas muy elásticas extensibles de forma reversible que son los constituyentes principales de las fibras elásticas para mantener la extensibilidad y elasticidad de la piel. Las elastinas se degradan y sintetizan de una forma sostenible, actuando así para mantener la extensibilidad y elasticidad de la piel, pero pueden perder su extensibilidad y elasticidad, cuando la velocidad de su degradación por elastasa, debida, por ejemplo, al envejecimiento supera la velocidad de su síntesis. Por consiguiente, la inhibición de elastasa permite a la piel mantener su extensibilidad y elasticidad. El aducto de la presente invención se ensaya para determinar su actividad inhibidora de elastasa de la siguiente forma:

60 Se usa como especie de ensayo el aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol (0,01 a 1 mM) de la presente invención y vitaminas E + C (0,01 a 1 mM), mientras que el sustrato para la elastasa es N-metoxisuccinil-L-alanil-L-alanil-L-prolil-L-valina-4-metil-cumaril-7-amida, o un sustrato sintético que emita fluorescencia al degradarse.

Procedimiento de ensayo

65

Se añaden a una placa de microvaloración de 96 pocillos 25 μ l del sustrato sintético (1,6 mM), 2 μ l de una muestra de ensayo, 150 μ l de un tampón (HEPES 62,5 mM (ácido 2-[4-(2-hidroxietil)-1-piperazinil]-etanosulfónico), NaCl 6,25 mM, BSA al 0,125% (albúmina sérica bovina), pH 7,8) y 25 μ l de elastasa originada de glóbulos blancos humanos

ES 2 281 518 T3

(0,1 mg/ml), y la mezcla se somete a medida de la intensidad de fluorescencia (Ex. 360/40 nm Em. 460/40 nm) en intervalos regulares de 1 minuto. La relación de la inhibición de elastasa se determina en base a una curva de calibración preparada con 7-amino-4-metil-cumarina.

5 Los resultados se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2

Actividad inhibidora de elastasa del aducto

10

| Muestra de ensayo | | Relación de inhibición de elastasa |
|---------------------|---------|------------------------------------|
| Aducto con propanol | 0,01 mM | 4 |
| | 0,1 mM | 19 |
| | 1 mM | 71 |
| Vitaminas E + C | 0,01 mM | 2 |
| | 0,1 mM | 0 |
| | 1 mM | 0 |

15

20

25

30

Como es evidente a partir de la Tabla 2, el aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol presenta una actividad inhibidora de elastasa notable, mientras que las vitaminas E + C apenas muestran actividad inhibidora de elastasa. Esto indica que el aducto con 1-propanol de la presente invención actúa inhibiendo la elastasa para mantener y mejorar la extensibilidad y elasticidad de la piel, siendo de utilidad de este modo para mantener la belleza de la piel y también prevenir y mejorar las arrugas.

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 281 518 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol o una de sus sales farmacológicamente aceptables.
2. Un compuesto según la reivindicación 1 que es aducto de diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol-1-propanol en forma cristalina.
- 10 3. Un procedimiento para producir un compuesto como el que se define en la reivindicación 2, que comprende extraer una solución que contiene diéster del ácido L-ascórbico-ácido 2-O-maleico y α -tocoferol con un disolvente de extracción, eliminar por destilación el disolvente de extracción y añadir 1-propanol o una mezcla en solución de 1-propanol con un disolvente orgánico al residuo, permitiendo de este modo la cristalización.
- 15 4. Un procedimiento según la reivindicación 3, en el que dicho disolvente orgánico es n-hexano, ciclohexano y/o éter de petróleo.
5. Un procedimiento según la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en el que dicho disolvente de extracción es cloroformo, acetato de etilo o una mezcla disolvente de los mismos.
- 20 6. Una composición que comprende un compuesto como el que se define en la reivindicación 1.
7. Una composición según la reivindicación 6, que es una composición cosmética.
- 25 8. Una composición según la reivindicación 6, que es una composición farmacéutica.
9. Un procedimiento de tratamiento cosmético no terapéutico que comprende administrar un compuesto como el que se define en la reivindicación 1.
- 30 10. Un procedimiento según la reivindicación 9, en el que el tratamiento comprende la inhibición de elastasa.
11. El uso de un compuesto como el que se define en la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento antioxidante.
- 35 12. El uso de un compuesto como el que se define en la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento captador de radicales.
13. El uso de un compuesto como el que se define en la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento antiinflamatorio.
- 40 14. El uso de un compuesto como el que se define en la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento inhibidor de elastasa.

45

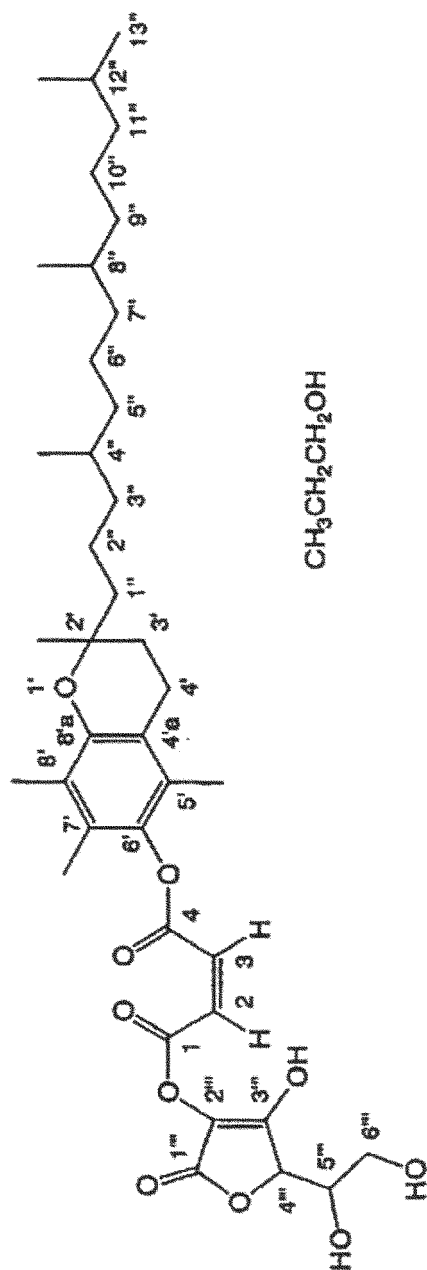
50

55

60

65

RMN de ^1H . Asignación estructural y fórmula estructural



RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz)

δ : 7,09 (1H, d, J = 12,2 Hz, C₃-H), 6,67 (1H, d, J = 12,2 Hz, C₂-H),
 4,95 (1H, s, C₄''-H), 3,81 (1H, t, C₅''-H), 3,46 (2H, m, C₆''-2H),
 3,34 (2H, t, CH₃CH₂CH₂OH), 2,55 (2H, t ancho, J = 6,7 Hz, C₄'-2H),
 2,02 (3H, s, C₈'-CH₃), 1,98 (3H, s, C₇'-CH₃), 1,96 (3H, s, C₅'-CH₃)