



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 367 789**

51 Int. Cl.:  
**C07C 229/22** (2006.01)  
**A61K 31/195** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05732530 .0**  
96 Fecha de presentación : **29.03.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1727786**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.12.2006**

54 Título: **Sales de adición de ácido del ácido 5-aminolevulínico o de sus derivados.**

30 Prioridad: **26.03.2004 GB 0406917**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.11.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.11.2011**

73 Titular/es: **PhotoCure ASA**  
**Hoffsveien 48**  
**0377 Oslo, NO**

72 Inventor/es: **Braenden, Jon, Erik;**  
**Godal, Aslak;**  
**Nilsen, Nils, Olav y**  
**Klaveness, Jo**

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 367 789 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

Sales de adición de ácido del ácido 5-aminolevulínico o de sus derivados

5 La presente invención se refiere a determinadas sales de ésteres del ácido 5-aminolevulínico (ésteres del 5-ALA), a su preparación y su uso, en particular como agentes fotosensibilizantes en fotoquimioterapia o diagnóstico. La invención se refiere en particular a nuevas sales de ésteres del 5-ALA.

La fotoquimioterapia, o terapia fotodinámica (TFD) como se conoce también, es una técnica para el tratamiento de  
10 diferentes anomalías o trastornos de la piel u otros órganos epiteliales o mucosa, en especial de cánceres o lesiones precancerosas, así como determinadas lesiones no malignas, por ejemplo enfermedades de la piel como la psoriasis. La fotoquimioterapia implica la aplicación de agentes fotosensibilizantes (fotoquimioterapéuticos) a la zona del cuerpo afectada, seguido de exposición a luz fotoactivadora con el fin de activar los agentes fotosensibilizantes y convertirlos en una forma citotóxica, de modo que las células afectadas mueran o disminuya su potencial  
15 proliferativo.

Se conoce una variedad de agentes fotosensibilizantes incluyendo en especial los psoralenos, las porfirinas (p. ej., Photofrin®), las clorinas y las ftalocianinas. Dichos fármacos se convierten en tóxicos cuando se exponen a la luz.

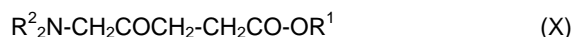
20 Entre los fotosensibilizantes más útiles clínicamente conocidos en la técnica están el ácido 5-aminolevulínico y sus derivados, por ejemplo ésteres tales como los ésteres del 5-ALA. Se describen, por ejemplo, en los documentos WO91/01727, WO96/28412 y WO02/10120. Hasta la fecha, dichos compuestos solo se han propuesto para uso clínico en forma de sus sales de hidrocloreto, por ejemplo como ALA-HCl en Levulan® (disponible en Dusa Pharmaceuticals Inc., Wilmington, EE.UU.), como el éster de metilo del ALA-HCl en Metvix® (PhotoCure ASA, Oslo,  
25 Noruega) y como éster de hexilo del ALA-HCl en Hexvix® (también PhotoCure ASA).

Aunque la fotoquimioterapia con ALA y derivados de ALA es clínicamente útil en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades precancerosas y cancerosas y otras afecciones, no obstante dichos compuestos presentan algunas limitaciones cuando se formulan para usar como productos farmacéuticos, p. ej., en la TFD. Por  
30 ejemplo, estos compuestos (en particular, el ALA y su sal de hidrocloreto) tienden a ser inestables en formulaciones farmacéuticas. En algunos casos, dichos compuestos también se pueden asociar con problemas relacionados con sus propiedades fisicoquímicas, por ejemplo, sus propiedades cristalinas, solubilidad o propiedades higroscópicas.

Por lo tanto, son necesarios agentes fotoquimioterapéuticos alternativos. En particular, son necesarios dichos  
35 agentes que sean mejores productos farmacéuticos, por ejemplo agentes fotoquimioterapéuticos que tengan propiedades fisicoquímicas mejoradas (p. ej., que sean más estables, menos higroscópicos, etc.) comparado con los conocidos en la técnica. También es conveniente que dichos agentes presenten una eficacia equivalente, o preferiblemente mejorada (es decir, un efecto fotoquimioterapéutico equivalente o potenciado) frente a los fotosensibilizantes conocidos cuando se usan en la TFD.

40 Sorprendentemente, ahora se ha encontrado que determinadas sales de ésteres del ácido 5-aminolevulínico tienen propiedades deseables para usar en formulaciones farmacéuticas (p. ej., formulaciones para usar en fotoquimioterapia) y que una serie de dichas sales tienen propiedades mejoradas con respecto a los compuestos de ALA conocidos y usados en la técnica. Específicamente, se ha encontrado que las sales de adición de ácido de  
45 determinados ésteres del ALA con un ácido que es un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico, son particularmente adecuadas para usar en formulaciones farmacéuticas, p. ej. formulaciones para usar en fotoquimioterapia. Por ejemplo, ahora se ha encontrado que dichos compuestos tienen propiedades fisicoquímicas mejoradas, tales como una estabilidad potenciada (p. ej., menor higroscopicidad), comparados con compuestos de ALA conocidos. También se ha encontrado que algunos de dichos compuestos presentan una eficacia mejorada (es  
50 decir, un efecto fotoquimioterapéutico potenciado) frente a los compuestos de ALA que se usan actualmente en clínica, por ejemplo, comparado con las correspondientes sales de hidrocloreto del ALA y de los ésteres de ALA.

Por lo tanto, vista desde un aspecto, la invención proporciona una sal de adición de ácido de un éster del ácido 5-aminolevulínico (éster del 5-ALA) con un ácido que es un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico, en el que  
55 dicho éster de 5-ALA es un compuesto de fórmula X:



(en la que R<sup>1</sup> representa un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> de cadena lineal no sustituido;

60 R<sup>2</sup>, cada uno independientemente, representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de cadena línea, ramificado o cíclico opcionalmente sustituido, que contiene hasta 20 átomos de carbono, que puede estar opcionalmente interrumpido por uno o más grupos -O-, -NR<sup>3</sup>-, -S- o -PR<sup>3</sup>-; y R<sup>3</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-6</sub>).

Preferiblemente, las sales de adición de ácido de acuerdo con la invención son farmacéuticamente aceptables. Por  
65 lo tanto, se prefiere que el ácido del cual derivan las sales de la invención sea él mismo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, la invención también proporciona dichos compuestos (es decir, sales de adición de ácido) para usar como productos farmacéuticos, p. ej., productos farmacéuticos para usar en fotoquimioterapia o diagnóstico.

5 Como se usa en el presente documento, las expresiones "ácido 5-aminolevulínico", "ALA" y "5-ALA" se usan de forma intercambiable y abarcan el ácido 5-amino-4-oxopentanoico. Los ésteres del 5-ALA son conocidos en general y están descritos en la técnica anterior, p. ej., en los documentos WO96/28412 y WO02/10120, cuyos contenidos se incorporan por entero en el presente documento por referencia. Los ésteres del 5-ALA preferidos para usar en la invención son los compuestos de ésteres del 5-ALA en los que el grupo 5-amino no está sustituido.

10

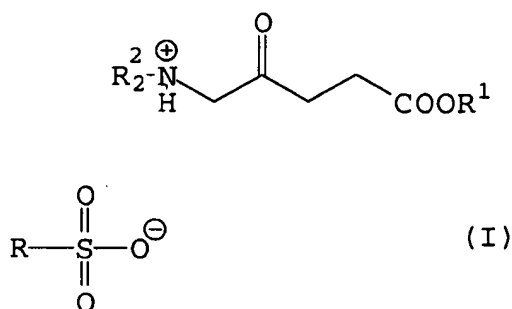
Como se usa en el presente documento, la expresión "ácido sulfónico" se pretende que incluya cualquier compuesto orgánico que contenga al menos un grupo  $-SO_3H$ . Preferiblemente, este puede comprender 1, 2 ó 3 grupos  $-SO_3H$ , lo más preferiblemente 1 ó 2, p. ej. 1. Cuando se usa en relación con el ácido sulfónico, el término "derivados" se pretende que abarque cualquiera de dichos compuestos que contienen al menos un grupo  $-SO_3X$  (preferiblemente 1, 2 ó 3, lo más preferiblemente 1 ó 2, p. ej., 1) (en el que X es un catión fisiológicamente tolerable, tal como un catión sodio, calcio, potasio, magnesio o meglumina).

15

Las sales de acuerdo con la invención típicamente se obtendrán del éster del ALA y un ácido monoprótico, p. ej. un ácido sulfónico tal como ácido metanosulfónico, formando por lo tanto una sal 1:1. Alternativamente, se pueden formar sales entre el éster del ALA y un ácido di o triprótico, p. ej., un ácido sulfónico tal como el ácido etano-1,2-disulfónico. En el caso en el que se use un ácido que tenga más de un protón ácido, el compuesto resultante puede tener una relación estequiométrica distinta de 1:1, por ejemplo 2:1 (éster del ALA:ácido) o 3:1 (éster del ALA:ácido), o puede comprender una mezcla de sales que tienen distintos niveles de estequiometría. Los ácidos polipróticos también son capaces de formar otras sales con el éster del ALA. Además, los ácidos polipróticos también pueden formar otras sales, p. ej., sales 1:1 con los ésteres del ALA en forma de sales con otras bases fisiológicamente aceptables, tales como hidróxido de sodio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio y meglumina.

25

Más preferiblemente, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I:



30

en la que R es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_{1-20}$  opcionalmente sustituido o un grupo arilo con hasta 20 átomos de carbono y  $R^1$  y  $R^2$  son como se han definido en lo que antecede.

35 Como se usa en el presente documento, salvo que se exponga lo contrario, el término "alquilo" incluye cualquier grupo hidrocarburo alifático, saturado o insaturado, de cadena larga o corta, de cadena lineal, ramificada o cíclica. Opcionalmente, este grupo puede estar sustituido (p. ej., mono o polisustituido), por ejemplo por grupos hidroxilo, alcoxi, aciloxi, nitro, alcocarboniloxi, amino, arilo, oxo, halógeno (p. ej. flúor o cloro), grupos  $-SR^3$ ,  $-NR^3_2$ , o  $-PR^3_2$  (en los que  $R^3$  es como se ha definido en lo que antecede). Los grupos alquilo insaturados pueden ser mono o poliinsaturados e incluyen tanto grupos alquenoilo como alquinoilo.

40

Los compuestos preferidos de acuerdo con la invención son aquellos de fórmula I en la que R es un grupo alquilo lineal, ramificado o cíclico (p. ej., mono o bicíclico, con puente o sin puente), opcionalmente sustituido que puede contener hasta 20 átomos de carbono, o un grupo arilo opcionalmente sustituido (es decir, mono o polisustituido), que preferiblemente contiene hasta 20 átomos de carbono. Los sustituyentes preferidos que pueden estar presentes en el grupo R incluyen alquilo  $C_{1-6}$  (p. ej., metilo), hidroxilo, alcoxi, aciloxi, nitro, alcocarboniloxi, amino, arilo, oxo y halógeno (p. ej. flúor o cloro).

45

En general, las sales de acuerdo con la invención que se forman entre el éster del ALA y un compuesto de ácido sulfónico, comprenden un solo resto de ácido sulfónico, es decir, un ácido monoprótico. Sin embargo, como se ha indicado antes, los compuestos que tienen más de un resto de ácido sulfónico (p. ej., 2 ó 3 de dichos grupos) están contemplados dentro del alcance de la invención. Por lo tanto, otros sustituyentes que pueden estar presentes en el grupo R incluyen uno o más, preferiblemente un grupo  $-SO_2OH$ ,  $-SO_2OX$  (en el que X es como se ha definido en lo que antecede) o  $SO_2O$ . Los ejemplos representativos de ácidos disulfónicos que se pueden usar para preparar las

50

sales de acuerdo con la invención incluyen ácido etano-1,2-disulfónico y ácido naftaleno-1,5-disulfónico.

En el caso del grupo R, los grupos alquilo contienen hasta 20, pero preferiblemente hasta 15, p. ej. hasta 12 átomos de carbono. Sin embargo, se prefieren los grupos alquilo que contienen hasta 10, p. ej., hasta 5, más  
5 preferiblemente 1, 2 ó 3 átomos de carbono. En particular, se prefieren los grupos alquilo lineales que tienen hasta 10 átomos de carbono, p. ej. grupos metilo, etilo o propilo. Aunque estos grupos pueden estar sustituidos o no sustituidos, preferiblemente no estarán sustituidos.

En el caso del grupo R, los grupos arilo preferidos incluyen grupos fenilo o naftilo opcionalmente sustituidos.  
10 Preferiblemente el grupo arilo está sustituido, por ejemplo con uno o más (p. ej. con 1, 2 ó 3 sustituyentes) sustituyentes que pueden incluir grupos alquilo C<sub>1-6</sub> (preferiblemente alquilo C<sub>1-4</sub>, p. ej. metilo), alcoxi (p. ej. metoxi), nitro, halógeno (p. ej., flúor o cloro), -SO<sub>3</sub>H, -SO<sub>3</sub>X (en el que X es como se ha definido en lo que antecede), SO<sub>2</sub>O o grupos trifluorometilo. Los ejemplos representativos de grupos arilo incluyen tolueno (p. ej. p-tolueno), benceno, naftaleno y naftalenosulfonato (p. ej., 2-naftalenosulfonato).

15 En el caso de R<sup>2</sup>, los grupos alquilo son los que contienen hasta 20, p. ej. hasta 10 átomos de carbono. En particular, se prefieren los hidrocarburos saturados que tienen hasta 10 átomos de carbono, p. ej., grupos hexilo, heptilo u octilo. Sin embargo, alternativamente se pueden usar alquilos inferiores tales como metilo, etilo y propilo. Los grupos alquilo adecuados pueden ser lineales o ramificados. Los ejemplos representativos de grupos alquilo  
20 ramificados incluyen 2-metilpentilo y 4-metilpentilo. En general, se prefieren los grupos alquilo lineales, no ramificados.

Los grupos alquilo sustituidos pueden estar mono o polisustituidos. Por lo tanto, los grupos R<sup>2</sup> adecuados incluyen, por ejemplo, alquilo no sustituido, alcoxialquilo, hidroxialcoxialquilo, polihidroxialquilo, hidroxipolialquilenoxialquilo,  
25 oxaalquilo, polioxaalquilo y similares.

Los grupos alquilo sustituidos R<sup>2</sup> representativos incluyen grupos alcoximetilo, alcoxi etilo y alcoxi propilo o grupos aciloximetilo, aciloxi etilo y aciloxi propilo, p. ej. pivaloiloximetilo.

30 Los compuestos preferidos de acuerdo con la invención incluyen los de fórmula I, en la que R<sup>2</sup> representa un grupo alquilo no sustituido o un grupo alquilo sustituido con arilo (p. ej., un grupo bencilo), en el que el propio grupo arilo puede estar sustituido como se ha descrito antes. En especial, R<sup>1</sup> es un grupo alquilo C<sub>1</sub> o C<sub>6</sub>. En particular, preferiblemente dichos compuestos son sales de ésteres del ALA, es decir R<sup>1</sup> es como se ha descrito antes, y en el N-terminal ambos grupos R<sup>2</sup> son átomos de hidrógeno.

35 En particular, los compuestos preferidos de acuerdo con la invención son aquellos compuestos de fórmula I en la que R<sup>1</sup> representa un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> no sustituido y/o cada R<sup>2</sup> representa un átomo de hidrógeno.

Los compuestos más preferidos de acuerdo con la invención son las sales de ácido sulfónico o sales de derivados  
40 de ácido sulfónico del éster de metilo del ALA y éster de hexilo del ALA.

Los compuestos de la invención preferidos en especial incluyen las sales de adición de ácido de los ésteres del ALA con un ácido sulfónico seleccionado de los siguientes:

45 ácido naftaleno-1,5-disulfónico,  
ácido etano-1,2-disulfónico,  
ácido ciclámico,  
ácido p-toluenosulfónico,  
ácido metanosulfónico,  
50 ácido dodecilsulfónico,  
ácido naftaleno-2-sulfónico,  
ácido bencenosulfónico,  
ácido 2-hidroxi-etanosulfónico,  
ácido etanosulfónico, y  
55 ácido (+)-canfor-10-sulfónico.

Se prefieren en especial las sales derivadas del ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido p-toluenosulfónico.

60 Los ejemplos de compuestos particularmente preferidos incluyen:

toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo;  
toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo;  
metanosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo; y  
65 metanosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo.

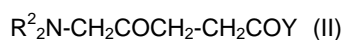
Los compuestos de la invención o para usar en la invención se pueden preparar usando procedimientos estándar y procedimientos conocidos en la materia para la formación de sales.

Los materiales de partida para preparar sales de acuerdo con la invención incluyen ésteres de ALA que se pueden hacer reaccionar con un ácido tal como un ácido sulfónico, p. ej., ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, etc.

Por lo tanto, se puede ver que la invención proporciona un procedimiento para preparar los compuestos de la invención, comprendiendo dicho procedimiento hacer reaccionar un éster del ALA con un ácido sulfónico o derivado de ácido sulfónico.

Alternativamente, con el fin de preparar una sal de un éster del ALA de acuerdo con la invención, se puede usar una reacción realizada en un solo matraz que implica la reacción del ácido 5-aminolevulínico, o un derivado esterificable del mismo, con un alcohol o un derivado del mismo que forma éster (p. ej., con un alcohol) en presencia de un ácido sulfónico o derivado de ácido sulfónico. Dicho procedimiento forma un aspecto adicional de la invención.

Más en particular, este aspecto de la invención proporciona un procedimiento para preparar una sal de adición de ácido como se describe en lo que antecede (p. ej., un compuesto de fórmula I), comprendiendo dicho procedimiento la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula II:



(en la que

Y representa un grupo saliente, por ejemplo un grupo hidroxilo, un átomo de halógeno o grupo alcoxi, o COY representa un grupo anhídrido de ácido, y  $R^2$  es como se ha definido en lo que antecede) con un compuesto de fórmula III:



(en la que  $R^1$  es como se ha definido antes) en presencia de un ácido como se ha definido en lo que antecede, p. ej. un ácido sulfónico de fórmula IV:



(en la que R es como se ha definido en lo que antecede).

Dichas reacciones se pueden llevar a cabo de forma conveniente en un disolvente o mezcla de disolventes tales como agua, acetona, metanol, etanol o tetrahidrofurano, etc., preferiblemente agua a temperaturas de hasta 100°C, preferiblemente a temperatura ambiente. Las condiciones para las reacciones dependerán de los reactivos usados y las condiciones se pueden elegir de modo que se obtenga el rendimiento máximo de la sal.

Los compuestos de la invención también se pueden preparar a partir de las correspondientes sales de hidrocloruro, por ejemplo usando procedimientos de intercambio iónico o por un procedimiento de la "sal de plata" como se resume a continuación. Estos procedimientos forman aspectos adicionales de la presente invención.

El procedimiento de intercambio iónico normalmente implica una primera etapa de pasar una disolución que contiene una sal de hidrocloruro del éster de ALA a través de una columna de intercambio iónico y una segunda etapa de añadir el eluato de la columna a una disolución de un ácido (p. ej., un ácido sulfónico). Se puede usar cualquier resina de intercambio iónico capaz de intercambiar  $Cl^-$  por un anión básico. Los intercambiadores de iones adecuados incluyen resinas de intercambio aniónico básicas fuertes (p. ej., Dowex® 11, Amberlyst® A26(OH) y similares). En este procedimiento los iones cloruro de la sal de hidrocloruro del éster de ALA son intercambiados por iones básicos (p. ej., hidróxido) durante el paso a través de la columna. Esto proporciona la base libre que después se neutraliza con un ácido sulfónico o derivado de ácido sulfónico, formando así simultáneamente la correspondiente sal de adición de ácido sulfónico del éster del ALA.

Por lo tanto, visto desde otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para preparar una sal de adición de ácido de acuerdo con la invención (p. ej., un compuesto de fórmula I), comprendiendo dicho procedimiento:

(i) poner en contacto una disolución que comprende un compuesto de fórmula  $Cl^- R^2_2N^+H-CH_2COCH_2CH_2CO_2R^1$  en la que  $R^1$  y  $R^2$  son como se han definido en lo que antecede, con una resina básica de intercambio aniónico;

(ii) opcionalmente separar dicha resina; y

(iii) mezclar la disolución resultante con una disolución que comprende un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico (p. ej., un compuesto de fórmula  $RSO_3H$  o  $RSO_3X$  en las que R y X son como se definen en lo que

antecede).

En el procedimiento de la sal de plata, una sal de hidrocloreuro del éster de ALA se hace reaccionar con la sal de plata de un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico en un disolvente en el que el AgCl es insoluble (p. ej., agua). Los ejemplos de sales de plata adecuadas incluyen metanosulfonato de plata, p-toluenosulfonato de plata, bencenosulfonato de plata, etc. En este procedimiento, la plata se puede sustituir por cualquier otro catión que forme un compuesto insoluble con los iones cloruro en un disolvente en el que la sal de hidrocloreuro del éster del ALA y la sal de adición de ácido adecuada (p. ej., sal de ácido sulfónico) sean al menos parcialmente (p. ej. sustancialmente) solubles. Por ejemplo, se puede hacer reaccionar una sal de hidrocloreuro del éster del ALA con la sal de sodio, potasio, calcio o magnesio de un ácido sulfónico en un disolvente en el que el NaCl/KCl/CaCl<sub>2</sub>/MgCl<sub>2</sub> sean insolubles (p., ej., disolvente orgánicos no acuosos).

Por lo tanto, visto desde un aspecto adicional, la invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la invención (p. ej., un compuesto de fórmula I), comprendiendo dicho procedimiento:

(i) hacer reaccionar un compuesto de fórmula Cl<sup>-</sup> R<sub>2</sub>N<sup>+</sup>H-CH<sub>2</sub>COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>1</sup> en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definen en lo que antecede con una sal de plata de un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico (p. ej., un compuesto de fórmula RSO<sub>3</sub>Ag en la que R es como se define en lo que antecede) en un disolvente en el que el AgCl sea sustancialmente insoluble; y

(ii) opcionalmente separar el AgCl de la sal resultante (p. ej., sal de ácido sulfónico)

Los compuestos usados como materiales de partida se conocen de la bibliografía, y en muchos casos están disponibles en el comercio o se pueden obtener usando procedimientos conocidos por sí mismos. El ALA, por ejemplo, está disponible en Sigma. Los procedimientos para preparar los ésteres de ALA se describen, por ejemplo, en los documentos WO96/28412 y WO02/10120, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento por referencia.

Algunos ejemplos de las sales de hidrocloreuro conocidas en la técnica anterior y adecuadas para usar como materiales de partida para la síntesis de sales de ácido sulfónico de acuerdo con la presente invención, incluyen: HCl del éster de metilo de ALA, HCl del éster de hexilo de ALA, etc.

Como se ha mencionado antes, los compuestos de la invención y para usar de acuerdo con la invención tienen propiedades farmacológicas valiosas, en concreto como inductores de porfirinas intracelulares con propiedades fotosensibilizantes que los hacen útiles como agentes fotoquimioterapéuticos. Sin embargo, los compuestos de la invención tienen una serie de ventajas frente a sales conocidas del ALA y ésteres del ALA, p. ej. las sales de hidrocloreuro. Primero, los compuestos de la invención en general son más estables y menos higroscópicos; esto tiene la ventaja del almacenamiento a largo plazo de preparaciones farmacéuticas sin ninguna degradación significativa de la sustancia activa que podría llevar a la pérdida de eficacia. Segundo, se ha encontrado sorprendentemente que las sales de adición de ácido de la invención tienen propiedades fotosensibilizantes mejoradas; los niveles de fluorescencia después de la administración de las sales de ácido sulfónico son mayores que con las correspondientes sales de hidrocloreuro.

Por consiguiente, un aspecto adicional de la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una sal de adición de ácido de la invención, junto con al menos un vehículo o excipiente farmacéutico.

En un aspecto adicional, se proporciona una composición farmacéutica, como se describe en lo que antecede, para usar como medicamento, p. ej. en fotoquimioterapia o diagnóstico.

En un aspecto adicional más, también se proporciona el uso de una sal de adición de ácido de la invención para preparar un agente terapéutico para usar en fotoquimioterapia, y en especial para el tratamiento de trastornos o anomalías de superficies externas o internas del cuerpo que son sensibles a la fotoquimioterapia.

Las anomalías y trastornos que se pueden tratar de acuerdo con la presente invención, incluyen cualesquiera anomalías o trastornos malignos, premalignos y no malignos sensibles a la fotoquimioterapia, p. ej. carcinoma de células basales (bcc), tumores u otros crecimientos, trastornos de la piel tales como psoriasis o queratosis actínica y acné, abrasiones de la piel, y otras enfermedades o infecciones, p. ej. infecciones bacterianas, víricas o fúngicas, por ejemplo infecciones por el virus del Herpes. La invención es particularmente adecuada para el tratamiento de enfermedades, trastornos o anomalías en los que se forman lesiones discretas a las que se pueden aplicar directamente las composiciones (lesiones, se usa en el presente documento en un sentido amplio que incluye tumores y similares).

Las superficies corporales internas y externas que se pueden tratar de acuerdo con la invención incluyen la piel y otras superficies epiteliales y serosas, incluyendo por ejemplo mucosa, revestimientos de órganos, p. ej., los tractos respiratorio, gastrointestinal y genitourinario, y glándulas con conductos que desembocan en dichas superficies (p. ej. hígado, folículos pilosos con glándulas sebáceas, glándulas mamarias, glándulas salivares y vesículas

seminales). Además de la piel, dichas superficies incluyen por ejemplo el revestimiento vaginal, el endometrio y el urotelio. Dichas superficies también pueden incluir cavidades formadas en el cuerpo después de extirpación de tejido enfermo o canceroso, p. ej., cavidades cerebrales después de extirpación de tumores tales como gliomas.

- 5 Por lo tanto, las superficies de ejemplo incluyen: (i) piel y conjuntiva; (ii) el revestimiento de la boca, faringe, esófago, estómago, intestinos y apéndices intestinales, recto y canal anal; (iii) el revestimiento de las fosas nasales, senos nasales, nasofaringe, tráquea, bronquios y bronquiolos; (iv) el revestimiento de los uréteres, vejiga urinaria y uretra; (v) el revestimiento de la vagina, cuello uterino y útero; (vi) pleura parietal y visceral; (vii) el revestimiento de las cavidades peritoneal y pélvica, y la superficie de los órganos contenidos en esas cavidades; (viii) la duramadre y las meninges; (ix) cualquier tumor en tejidos sólidos que pueden estar accesibles para la luz fotoactivante, p. ej., directamente, en el momento de la cirugía o por una fibra óptica insertada a través de una aguja.

- Las composiciones de la invención se pueden formular de cualquier manera convencional con uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables, de acuerdo con técnicas bien conocidas en la materia. Cuando sea adecuado, los compuestos o composiciones de acuerdo con la invención se esterilizan, p. ej. por irradiación  $\gamma$ , tratamiento en autoclave o esterilización térmica, antes o después de la adición de un vehículo o excipiente en el que están presentes, para proporcionar formulaciones estériles.

- Las composiciones se pueden administrar por vía tópica, oral o sistémica. Se prefieren las composiciones tópicas e incluyen geles, cremas, pomadas, pulverizadores, lociones, bálsamos, barras, jabones, polvos, pesarios, aerosoles, gotas, disoluciones y cualquiera de las otras formas farmacéuticas convencionales en la técnica.

- Las pomadas, geles y cremas se pueden formular, por ejemplo, con una base acuosa o aceitosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones se pueden formular con una base acuosa o aceitosa y, en general, también contendrán uno o más agentes emulsionantes, dispersantes, de suspensión, espesantes o colorantes. Los polvos se pueden formar con la ayuda de cualquier base en polvo adecuada. Las gotas y disoluciones se pueden formular con una base acuosa o no acuosa que también comprende uno o más agentes dispersantes, solubilizantes o de suspensión. Los pulverizadores en aerosol se suministran convenientemente de envases presurizados, usando un propulsor adecuado.

- Alternativamente, las composiciones se pueden proporcionar en una forma adaptada para la administración oral o parenteral, por ejemplo por inyección intradérmica, subcutánea, intraperitoneal o intravenosa. Por lo tanto, las formas farmacéuticas alternativas incluyen comprimidos sencillos o recubiertos, cápsulas, suspensiones y disoluciones que contienen el componente activo opcionalmente junto con uno o más vehículos y/o diluyentes inertes convencionales, p. ej., con almidón de maíz, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, estearato magnésico, polivinilpirrolidona, ácido cítrico, ácido tartárico, agua, agua/etanol, agua/glicerol, agua/sorbitol, agua/polietilenglicol, propilenglicol, alcohol estearílico, carboximetilcelulosa o sustancias grasas tales como grasa sólida o mezclas de las mismas adecuadas.

- Las composiciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, potenciadores de la adsorción, p. ej., agentes de penetración en la superficie mencionados más adelante, y similares. Las composiciones de la invención se pueden formular para así proporcionar la liberación rápida, sostenida o retrasada del principio activo después de la administración al paciente usando procedimientos bien conocidos en la materia. También se pueden usar agentes solubilizantes y/o estabilizantes, p. ej. ciclodextrinas (CD)  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y HP-ciclodextrina  $\beta$ . Las composiciones pueden estar en cualquier forma de dosificación adecuada, por ejemplo como una emulsión o en liposomas, niosomas, microesferas, nanopartículas o similares. El compuesto de la invención después se puede absorber, incorporar o unir a estas formas.

- La concentración de los compuestos de la invención en las composiciones depende de la naturaleza del compuesto, la composición, el modo de administración, la afección que se va a tratar y el paciente, y se puede variar o ajustar de acuerdo con la elección. Sin embargo, en general, son adecuados intervalos de concentración de 0,01 a 50%, p. ej., de 0,05 a 20%, p. ej., 1-10% (p/p). Para aplicaciones terapéuticas se ha encontrado que son adecuados intervalos de concentración de 0,1 a 50%, p. ej. de 0,2 a 30% (p/p). Se pueden usar dosis inferiores cuando los compuestos son muy lipófilos, p. ej. en un intervalo de concentración de 0,01 a 10%, p. ej. de 0,02 a 1% (p/p).

La administración tópica en sitios inaccesibles se puede lograr por técnicas conocidas en la materia, p. ej. usando catéteres u otros sistemas adecuados de suministro de fármacos.

- Después de la administración en la superficie, el área tratada se expone a la luz para lograr el efecto fotoquimioterapéutico. El periodo de tiempo después de la administración en el que se produce la exposición a la luz, dependerá de la naturaleza de la composición, la afección que se va a tratar y la forma de administración. Este puede ser en general del orden de 0,5 a 48 horas, p. ej., de 1 a 10 horas.

- La irradiación en general se aplicará con un nivel de dosis de 40 a 200 Julios/cm<sup>2</sup>, por ejemplo de 100 Julios/cm<sup>2</sup>.

La longitud de onda de la luz usada para la irradiación se puede seleccionar para lograr un efecto fotoquimioterapéutico adecuado. Se ha encontrado que es eficaz la irradiación con luz blanca, en particular luz que tiene longitudes de onda en el intervalo de 300-800 nm, por ejemplo, en el intervalo de 500-700 nm. Puede ser particularmente importante incluir las longitudes de onda de 630 y 690 nm.

5 Las sales de adición de ácido de la invención se pueden usar en un procedimiento de tratamiento fotoquimioterapéutico de trastornos o anomalías de superficies externas o internas del cuerpo, que comprende administrar a las superficies afectadas una sal de adición de ácido o la composición como se ha definido en lo que antecede, y exponer dichas superficies a luz (p. ej. luz blanca), preferiblemente a luz en la región de longitud de  
10 onda de 300-800 nm (p. ej. luz azul en la región de longitud de onda de 380-440 nm). Alternativamente, se puede usar luz en la región de longitud de onda de 500-700 nm.

Los procedimientos para irradiar diferentes regiones del cuerpo, p. ej. lámparas o láseres son bien conocidos en la materia (véase, por ejemplo, Van den Bergh, *Chemistry in Britain*, Mayo 1986 pág. 430-439). Para las regiones  
15 inaccesibles, esto se puede lograr de forma conveniente usando fibras ópticas.

Los compuestos de la invención se pueden formular y/o administrar con otros agentes fotosensibilizantes, por ejemplo Photofrin®, o con otros componentes activos que puedan potenciar el efecto fotoquimioterapéutico. Por ejemplo, se pueden incluir de forma beneficiosa agentes quelantes para potenciar la acumulación del potente  
20 fotosintetizador protoporfirina IX (Pp); la quelación de hierro por agentes quelantes previene su incorporación en la Pp para formar el grupo hemo por acción de la enzima ferroquelatasa, conduciendo así a una acumulación de Pp. De esta forma, se potencia el efecto fotosensibilizante.

Los agentes quelantes de tipo ácido aminopolicarboxílico son particularmente adecuados para usar en relación con  
25 esto, incluyendo cualquiera de los quelantes descritos en la bibliografía para la detoxificación de metales o para la quelación de iones metálicos paramagnéticos en agentes de contraste para la generación de imágenes por resonancia magnética. Se pueden mencionar en particular EDTA, CDTA (ácido ciclohexanodiaminatetraacético), DTPA y DOTA y derivados/análogos de los mismos bien conocidos. Se prefiere el EDTA. Para lograr el efecto de quelación del hierro, también se puede usar la desferrioxamina y otros sideróforos, p. ej. junto con los agentes  
30 quelantes de tipo ácido aminopolicarboxílico, tales como el EDTA. El agente quelante se puede usar de forma conveniente en una concentración de 0,05 a 20%, p. ej. de 0,1 a 10% (p/p).

Como se describe en el documento WO95/07077, también se ha encontrado que los agentes ayudantes de la penetración en la superficie, y en especial los dialquilsulfóxidos tales como el dimetilsulfóxido (DMSO) pueden tener  
35 un efecto beneficioso en la potenciación del efecto fotoquimioterapéutico. Los agentes ayudantes de la penetración en la superficie para usar en la invención, pueden ser cualquiera de los agentes ayudantes de la penetración en la superficie descritos en la bibliografía farmacéutica, p. ej., quelantes (p. ej. EDTA), tensioactivos (p. ej. dodecilsulfato sódico), no tensioactivos, sales biliares (p. ej. desoxicolato sódico) y ácidos grasos (p. ej. ácido oleico). Los ejemplos de agentes ayudantes de la penetración en la superficie incluyen HPE -101 (disponible en Hisamitsu), DMSO y otros  
40 dialquilsulfóxidos, en particular n-decilmetil-sulóxido (NDMS), dimetilsulfacetamida, dimetilformamida (DMFA), dimetilacetamida, glicoles, diferentes derivados de pirrolidona (Woodford y col., *J. Toxicol. Cut. & Ocular Toxicology*, 1986, 5: 167-177), y Azone® (Stoughton y col., *Drug Dpv. Ind. Pharm.* 1983, 9: 725-744), o mezclas de los mismos.

Sin embargo, se prefiere el DMSO debido a sus actividades antihistamínicas y antiinflamatorias y su efecto  
45 estimulador en la actividad de las enzimas ALA-sintasa y ALA-deshidrogenasa (las enzimas que forman y condensan el ALA al porfobilinógeno, respectivamente) potenciando así la formación de la forma activa, la Pp.

El agente de penetración de la superficie se puede proporcionar de forma conveniente en el intervalo de concentración de 0,2 a 50% (p/p), p. ej., aproximadamente 10% (p/p).  
50

Las composiciones de la invención se pueden formular y/o administrar adicionalmente con otros agentes, para mejorar la eficacia de la TFD. Además, cuando se tratan tumores, por ejemplo, se pueden usar inhibidores angiogénicos (fármacos antiangiogénicos) que se ha encontrado que son útiles para tratar tumores (O'Reilly y col.,  
55 *Nature Medicine*, 2, pág. 689-692, 1996; Yamamoto y col., *Anticancer Research*, 14, pág. 1-4, 1994; y Brooks y col., *J. Clin. Invest.*, 96, pág. 1815-1822, 1995) junto con composiciones de la invención en la TFD para dañar más el sistema vascular del tumor. Los inhibidores angiogénicos que se pueden usar incluyen TNP-470 (AGM-1470, un análogo sintético de un producto de secreción fúngico llamado fumagilina; Takeda Chemical Industries Ltd., Osaka, Japón), angiostatina (Surgical Research Lab. at Children's Hospital Medical Center of Harvard Medical School) y antagonistas de la integrina  $\alpha_v\beta_3$  (p. ej. anticuerpo monoclonal contra la integrina  $\alpha_v\beta_3$ , The Scripps Research  
60 Institute, LaJolla, CA).

Alternativamente, o adicionalmente, se pueden usar agentes de inmunoterapia (p. ej. anticuerpos o efectores tales como el factor activante de macrófagos) o agentes quimioterapéuticos, para mejorar la TFD de acuerdo con la invención. La administración de estos agentes complementarios debe realizarse en términos de la vía, concentración  
65 y formulación, de acuerdo con procedimientos conocidos para usar estos agentes. Estos agentes adicionales se pueden administrar antes, después o durante la TFD, dependiendo de su función. Por ejemplo, se pueden añadir



inhibidores de la angiogénesis de 5 a 10 días después de la TFD para prevenir que el tumor vuelva a crecer.

Se pueden usar igualmente otros agentes anticancerígenos en combinación con una composición de la invención, como parte de la formulación o como un tratamiento separado para administrar de forma simultánea, separada o  
5 secuencial.

Se ha encontrado que la glucosa ayuda a la TFD cuando se aplica por vía tópica o sistémica. Cuando se contempla la administración tópica, la formulación, p. ej. una crema, puede contener convenientemente glucosa de 0,01% a  
10 10% (p/p).

De acuerdo con la afección que se va a tratar y la naturaleza de la composición, los compuestos para usar en la invención se pueden coadministrar con dichos otros agentes opcionales, por ejemplo en una sola composición o se pueden administrar de forma secuencial o separada. Realmente, en muchos casos se puede obtener un efecto fotoquimioterapéutico particularmente beneficioso mediante pretratamiento con el agente ayudante de la penetración en la superficie en una etapa separada, antes de la administración de los compuestos de la invención. Además, en  
15 algunas situaciones puede ser beneficioso un tratamiento previo con un agente ayudante de la penetración en la superficie, seguido de la administración del agente fotoquimioterapéutico junto con el agente ayudante de la penetración en la superficie. Cuando se usa un agente ayudante de la penetración en la superficie en el tratamiento previo, este se puede usar en concentraciones altas, p. ej., hasta 100% (p/p). Si se usa dicha etapa de tratamiento  
20 previo, el agente fotoquimioterapéutico se puede administrar posteriormente hasta varias horas después del tratamiento previo, p. ej. en un intervalo de 5-60 minutos después del tratamiento previo.

Vista desde otro aspecto, la invención proporciona, por lo tanto, un producto que comprende una sal de adición de ácido de la invención, junto con al menos un agente ayudante de la penetración en la superficie, y opcionalmente  
25 uno o más agentes quelantes como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de trastornos o anomalías de superficies externas o internas del cuerpo, que son sensibles a la fotoquimioterapia.

Visto de forma alternativa, este aspecto de la invención también proporciona un kit para usar en fotoquimioterapia de  
30 trastornos o anomalías de superficies externas o internas del cuerpo, que comprende:

- a) un primer envase que contiene una sal de adición de ácido de la invención,
- b) un segundo envase que contiene al menos un agente ayudante de la penetración en la superficie; y  
35 opcionalmente
- c) uno o más agentes quelantes contenidos en dicho primer envase o en un tercer envase.

Se observará que el procedimiento de terapia que usa compuestos descritos en lo que antecede, inevitablemente  
40 implica el suministro de porfirinas intracelulares que fluorescen en el sitio del trastorno o anomalía que se va a tratar. Aunque la intensidad de esta fluorescencia se puede usar para eliminar células anómalas, la localización de la fluorescencia se puede usar para visualizar el tamaño, la extensión y situación de la anomalía o trastorno. La fluorescencia se puede generar por excitación con luz azul (p. ej. luz en la región de longitud de onda de 350-440 nm) y medir en la región de longitud de onda de 550-750 nm.

La anomalía o trastorno identificado o confirmado de esta forma en el sitio de investigación, después se puede tratar por técnicas terapéuticas alternativas, p. ej. tratamiento quirúrgico o químico, o por el procedimiento de terapia de la invención por acumulación continuada de fluorescencia o por la aplicación adicional de compuestos de la invención en el sitio adecuado. Se observará que las técnicas de diagnóstico pueden necesitar niveles de fluorescencia  
45 inferiores para la visualización que los usados en tratamientos terapéuticos. Por lo tanto, en general, son adecuados intervalos de concentración de 0,2 a 30%, p. ej. 1-5% (p/p).

Los sitios, procedimientos y modos de administración se han considerado antes con respecto a los usos terapéuticos y son aplicables también a los usos de diagnóstico descritos aquí.  
55

Los compuestos de la invención también se pueden usar para técnicas de diagnóstico in vitro, por ejemplo para el examen de células contenidas en fluidos corporales. La mayor fluorescencia asociada con el tejido que no es normal puede ser convenientemente indicativa de una anomalía o trastorno. Este procedimiento es muy sensible y se puede usar para la detección precoz de anomalías o trastornos, por ejemplo, para el carcinoma de vejiga o pulmón por  
60 examen de células epiteliales en muestras de orina o esputo, respectivamente. Otros fluidos corporales útiles que se pueden usar para el diagnóstico además de la orina y el esputo, incluyen la sangre, semen, lágrimas, líquido cefalorraquídeo, etc. También se pueden evaluar muestras o preparaciones de tejidos, por ejemplo muestra de tejido de biopsia o de la médula ósea. Por lo tanto, la presente invención se extiende al uso de compuestos de la invención para el diagnóstico de acuerdo con los procedimientos mencionados antes para la fotoquimioterapia, y a los  
65 productos y kits para realizar dicho diagnóstico.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a un procedimiento para el diagnóstico in vitro de anomalías o trastornos, ensayando una muestra de fluido corporal o tejido de un paciente, comprendiendo dicho procedimiento al menos las siguientes etapas:

- 5 i) mezclar dicho fluido corporal o tejido con una sal de adición de ácido de acuerdo con la invención,
- ii) exponer dicha mezcla a la luz,
- 10 iii) determinar el nivel de fluorescencia, y
- iv) comparar el nivel de fluorescencia con los niveles de control.

Ahora la invención se describirá con más detalle en los siguientes ejemplos no limitantes, con referencia a los dibujos, en los que:

15 La figura 1 muestra la fluorescencia de la piel después de aplicación tópica de formulaciones en crema que contienen sales de hidrocloreuro y metanosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo, las barras indican la desviación típica.

20 La figura 2 muestra la fluorescencia de la piel después de aplicación tópica de formulaciones en crema que contienen sales de hidrocloreuro, metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo, las barras indican la desviación típica.

La figura 3 muestra la higroscopicidad de las sales hidrocloreuro, metanosulfonato y toluenosulfonato del éster de metilo del ácido 5-amino-4-oxopentanoico.

La figura 4 muestra la higroscopicidad de las sales hidrocloreuro, metanosulfonato y toluenosulfonato del éster de hexilo del ácido 5-amino-4-oxopentanoico.

30 El ejemplo 3 no forma parte de la invención, pero ilustra el procedimiento de la sal de plata que se usa en otros ejemplos para preparar compuestos que están de acuerdo con la invención.

#### **Ejemplo 1** - Preparación del toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo

35 Se añadió hidrogenocarbonato de sodio (0,42 g; 5,0 mmol) a una disolución del hidrocloreuro del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo (0,5 g; 2,0 mmol) en agua (10 ml) y diclorometano (5 ml). La mezcla se agitó bien y se dejó que se separara. La capa orgánica se separó mediante pipeta y se añadió ácido p-toluenosulfónico (0,38 g; 2,0 mmol). La parte acuosa se extrajo con diclorometano (1 x 1 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se evaporaron, dejando un aceite amarillo que solidificó al almacenar durante la noche en un frigorífico. El residuo

40 resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice 60 de 170 x 25 mm eluida con acetonitrilo (150 ml), metanol en acetonitrilo al 5% (500 ml), y metanol en acetonitrilo al 10% (250 ml), recogiendo 15 fracciones x 50 ml. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron, dejando 0,31 g (40%) de residuo.

RMN <sup>1</sup>H: (200 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 0,87 (3H, t, J = 1 Hz), 1,26 (6H, s ancho), 1,56 (2H, m), 2,29 (3H, s), 2,54 (2H, t, J = 7 Hz), 2,79 (2H, t, J = 6 Hz), 4,0 (4H, m), 7,12 (2H, d, J = 8 Hz), 7,48 (2H, d, J = 8 Hz), 8,04 (3H, s ancho).

#### **Ejemplo 2** - Preparación del metanosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo (procedimiento de intercambio iónico).

50 Una disolución del hidrocloreuro del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo (1,0 g; 4,0 mmol) en agua (5 ml) y etanol al 96% (5 ml) se pasó por una columna Amberlyst A-26(OH) (2,1 g; 8,8 meq) a una disolución de ácido metanosulfónico (0,38 g; 4,0 mmol) en agua (3 ml). La columna con la resina se lavó con etanol acuoso al 50% (10 ml) y los eluyentes combinado se evaporaron hasta sequedad. Después de secar durante la noche, el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice 60 de 170 x 25 mm eluida con acetonitrilo

55 (200 ml), metanol en acetonitrilo al 5% (500 ml), metanol en acetonitrilo al 7,5% (500 ml) y metanol en acetonitrilo al 10% (750 ml), recogiendo 27 fracciones x 50 ml. La evaporación de las fracciones que contenían producto dio 0,77 g (62%) de residuo, p.f. 132-134°C.

RMN <sup>1</sup>H: (200 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 0,87 (3H, t, J = 6 Hz), 1,27 (6H, s ancho), 1,56 (2H, m, J = 6 Hz), 2,35 (3H, s), 2,55 (2H, t, J = 6 Hz), 2,80 (2H, t, J = 6 Hz), 4,00 (4H, m), 8,08 (3H, s ancho).

RMN <sup>13</sup>C: (50 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13,8, 21,8, 24,9, 27,0, 30,8, 34,1, 39,5, 46,6, 64,0, 171,8, 202,4.

#### **Ejemplo 3** - Preparación del metanosulfonato del ácido 5-amino-4-oxopentanoico (procedimiento de la sal de plata).

65 Una disolución del hidrocloreuro del ácido 5-amino-4-oxopentanoico (1,0 g; 6,0 mmol) en agua (5 ml) se añadió a una

disolución agitada de metanosulfonato de plata (1,22 g; 6,0 mmol) en agua (10 ml) en un matraz erlenmeyer tapado, envuelto con papel de aluminio. La mezcla se agitó durante la noche y se transfirió a tubos de centrifuga. La mezcla se centrifugó y se decantó. El residuo se lavó con agua (2 x 1 ml). Después de centrifugar, las disoluciones acuosas combinadas se liofilizaron durante la noche para dar el metanosulfonato del ácido 5-amino-4-oxopentanoico (1,3 g; 5 96% de rendimiento), P.f. 153,5-154,5°C.

RMN <sup>1</sup>H: (200 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,39 (3H, s), 2,50 (2H, t, J = 6 Hz), 2,72 (2H, t, J = 4 Hz), 3,97 (2H, s), 8,08 (3H, s ancho).

10 RMN <sup>13</sup>C: (50 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 27,2, 34,2, 39,5, 46,6, 173,2, 202,6.

#### **Ejemplo 4** - Metanosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo

Se preparó a partir del hidrocloreto del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo y metanosulfonato de plata usando el 15 procedimiento de la sal de plata, P.f. 135-137°C.

RMN <sup>1</sup>H: (200 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,29 (3H, s), 2,54 (2H, t, J = 8 Hz), 2,79 (2H, t, J = 6 Hz), 3,59 (3H, s), 3,98 (2H, s), 7,13 (2H, d, J = 8 Hz), 7,50 (2H, d, J = 8 Hz), 8,07 (3H, s ancho).

20 RMN <sup>13</sup>C: (50 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 20,7, 26,8, 34,1, 46,6, 51,4, 125,3, 127,9, 137,7, 145,1, 172,2, 202,4.

#### **Ejemplo 5** - Toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo

Se preparó a partir del hidrocloreto del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo y p-toluenosulfonato de plata usando el 25 procedimiento de la sal de plata, P.f. 138-140°C.

RMN <sup>1</sup>H: (200 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,29 (3H, s), 2,54 (2H, t, J = 8 Hz), 2,79 (2H, t, J = 6 Hz), 3,59 (3H, s), 3,98 (2H, s), 7,13 (2H, d, J = 8 Hz), 7,50 (2H, d, J = 8 Hz), 8,07 (3H, s ancho).

30 RMN <sup>13</sup>C: (50 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 20,7, 26,8, 34,1, 46,6, 51,4, 125,3, 127,9, 137,7, 145,1, 172,2, 202,4.

#### **Ejemplo 6** - Metanosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo

Se preparó a partir del hidrocloreto del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo y metanosulfonato de plata usando el 35 procedimiento de la sal de plata, P.f. 125°C y 134-136°C (diferentes formas cristalinas).

RMN <sup>1</sup>H: (200 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 0,87 (3H, t, J = 6 Hz), 1,27 (6H, s ancho), 1,56 (2H, m, J = 6 Hz), 2,35 (3H, s), 2,55 (2H, t, J = 6 Hz), 2,80 (2H, t, J = 6 Hz), 4,00 (4H, m), 8,08 (3H, s ancho).

40 RMN <sup>13</sup>C: (50 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13,8, 21,8, 24,9, 27,0, 30,8, 34,1, 39,5, 46,6, 64,0, 171,8, 202,4.

#### **Ejemplo 7** - Toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo

Se preparó a partir del hidrocloreto del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo y p-toluenosulfonato de plata usando el 45 procedimiento de la sal de plata, P.f. 116-118°C.

RMN <sup>1</sup>H: (200 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 0,86 (3H, t, J = 6 Hz), 1,26 (6H, s ancho), 1,53 (2H, m), 2,29 (3H, s), 2,53 (2H, t, J = 6 Hz), 2,78 (2H, t, J = 6 Hz), 4,0 (4H, m), 7,12 (2H, d, J = 8 Hz), 7,50 (2H, d, J = 8 Hz), 8,06 (3H, s ancho).

50 RMN <sup>13</sup>C: (50 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>): δ 13,8, 20,7, 21,9, 24,9, 27,0, 28,0, 30,8, 34,1, 46,6, 64,0, 125,3, 127,9, 137,6, 145,2, 171,8, 202,4.

#### **Ejemplo 8** - Formulaciones

55 Se formularon diferentes sales de ésteres del ácido 5-amino-4-hexanoico en Unguentum Merck para estudios dérmicos. Todas las formulaciones en crema contenían 0,5 mmol de sustancia por 10 g de crema para asegurar la misma concentración molar (suponiendo que 10 g de crema equivalen a 10 ml, la concentración molar aproximada es 0,5 mmol/10 ml o 50 mM).

60 La preparación de las formulaciones se resume en la siguiente tabla 1.

Tabla 1 - Formulaciones dérmicas

sustancia-sal*	P.M.	Formulación ** (mg/10 g de crema)
5-amino-4-oxopentanoato de hexilo-HCl	251	125
5-amino-4-oxopentanoato de hexilo-metanosulfonato	294	150
5-amino-4-oxopentanoato de hexilo-toluenosulfonato	372	190
5-amino-4-oxopentanoato de metilo-HCl	181	100
5-amino-4-oxopentanoato de metilo-metanosulfonato	224	125
5-amino-4-oxopentanoato de metilo-toluenosulfonato	302	170

\*Todas las sales se prepararon por el procedimiento de la sal de plata

\*\*Todas las formulaciones contenían 0,5 mmol de sal por 10 g de crema

5

**Ejemplo 9** - Actividad biológica. Sales de 5-amino-4-oxopentanoato de metilo

Procedimiento: En este estudio se usaron ratones sin pelo atímicos Balb/c hembra, que pesaban aproximadamente 22 g, obtenidos del Departamento de Animales de Laboratorio, The Norwegian Radium Hospital, Oslo, Noruega.

10 Cada grupo consistía en 3 ratones.

Cada ratón recibió 0,05-0,1 g de formulación (véase el ejemplo 8) aplicada por vía tópica en el flanco derecho del cuerpo, distribuida uniformemente y cubierta con un apósito (Opsite Flexigrid; Smith and Nephew Medical Ltd., Hull, Reino Unido).

15

El dispositivo de medición de puntos de fibra usado consistía en un haz de fibras ópticas conectadas a un espectrofluorímetro que producía la luz de excitación a 407 nm. La luz de excitación que es capaz de penetrar 0,1 - 0,5 mm en el tejido, se dirigió por la mitad de las fibras a la piel del ratón. Se recogió el espectro de fluorescencia de emisión resultante (550-750) nm y se dirigió a través de las fibras restantes a un fotomultiplicador para la

20

cuantificación. El espectro de fluorescencia de la piel se midió 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 24 horas después de administración y se representó gráficamente frente al tiempo.

En la figura 1 puede verse que la sal de metanosulfonato del 5-aminolevulinato de metilo dio un aumento considerable de fluorescencia de la piel comparado con la sal de hidrocioruro.

25

**Ejemplo 10** - Actividad biológica. Sales de 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo

La preparación de formulaciones se describe en el ejemplo 8. Se usó el mismo sistema experimental que en el ejemplo 9, y los resultados se muestran en la figura 2.

30

En la figura 2 se puede ver que las sales de metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-aminolevulinato de hexilo dieron aproximadamente la misma fluorescencia en la piel que la sal de hidrocioruro.

**Ejemplo 11** - Higroscopicidad del hidrocioruro, metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo

35

Las muestras (2 mg) de hidrocioruro, metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo se mantuvieron a temperatura ambiente y humedad ambiente durante 4 días. No hubo cambios observables.

40 Las muestras (2 mg) de hidrocioruro, metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo se mantuvieron a temperatura ambiente y humedad al 100%. Después de una noche en reposo se había producido la delicuescencia del hidrocioruro. La delicuescencia del metanosulfonato se produjo después de 2 días, mientras que la delicuescencia del toluenosulfonato se produjo después de 4 días.

**Ejemplo 12** - Higroscopicidad del hidrocioruro, metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo

Las muestras de hidrocioruro, metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo se pesaron y se mantuvieron en copas de plástico de 30 ml en una cámara cerrada al 75-84% de humedad relativa sobre disolución saturada de sulfato amónico a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). Después las muestras se pesaron tras diferentes intervalos de tiempo para controlar la absorción de agua. También se comprobó el aspecto de las muestras al mismo tiempo para determinar el inicio de la delicuescencia. Los resultados se muestran en la figura 3.

50 En la figura 3 se puede ver que tanto las sales de hidrocioruro como las de mesilato absorbieron agua en una cantidad considerable determinada por el peso, y que el inicio de la delicuescencia se produjo después de 22 h (indicado por asteriscos en la figura). A diferencia de esto, la sal de tosilato del 5-amino-4-oxopentanoato de metilo

no absorbió agua y no cambió de aspecto durante el periodo de ensayo.

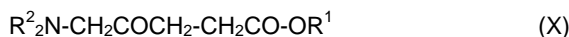
**Ejemplo 13** - Higroscopicidad del hidrocloreto, metanosulfonato y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo

5 Las muestras de hidrocloreto y toluenosulfonato del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo se pesaron y se mantuvieron en copas de plástico de 30 ml en una cámara cerrada al 75-84% de humedad relativa sobre disolución saturada de sulfato amónico a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). Después las muestras se pesaron tras diferentes intervalos de tiempo para controlar la absorción de agua. También se comprobó el aspecto de las  
10 muestras al mismo tiempo para determinar el inicio de la deliquesencia. Los resultados se muestran en la figura 4.

En la figura 4 se puede ver que la sal de hidrocloreto del 5-amino-4-oxopentanoato de hexilo no absorbió agua en una cantidad considerable, determinada por el peso, pero el inicio de la deliquesencia ocurrió después de solo 0,5 h (indicado por un asterisco en la figura). La sal de mesilato absorbió agua en la misma medida, pero no se produjo la  
15 deliquesencia. La sal de tosilato del 5-amino-4-oxolevulinato de hexilo no absorbió agua y no cambió de aspecto durante el periodo de ensayo.

## REIVINDICACIONES

1. Una sal de adición de ácido de un éster del ácido 5-aminolevulínico (éster del 5-ALA) con un ácido que es un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico, en el que dicho éster del 5-ALA es un compuesto de fórmula X:



en la que  $R^1$  representa un grupo alquilo  $C_{1-6}$  de cadena lineal no sustituido;

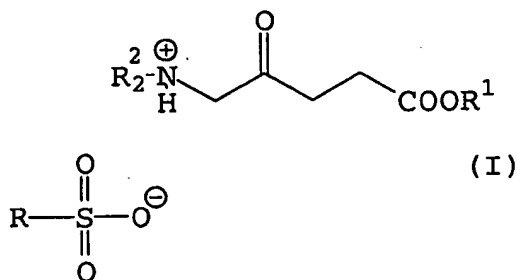
10  $R^2$ , cada uno independientemente, representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de cadena línea, ramificada o cíclica, opcionalmente sustituido, que contiene hasta 20 átomos de carbono, que puede estar opcionalmente interrumpido por uno o más grupos -O-,  $-NR^3$ -, -S- o  $-PR^3$ -; y

15  $R^3$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_{1-6}$ .

2. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 1, en la que en la fórmula X cada  $R^2$  representa un átomo de hidrógeno.

20 3. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 1, en la que dicho compuesto de fórmula X es el éster de metilo del 5-ALA o el éster de hexilo del 5-ALA.

4. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 1, de fórmula I:



25

en la que R es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_{1-20}$  opcionalmente sustituido o un grupo arilo de hasta 20 átomos de carbono; y

30  $R^1$  y  $R^2$  son como se definen en la reivindicación 1.

5. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 4, en la que R es un grupo alquilo o arilo opcionalmente sustituido.

35 6. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 4, en la que R es fenilo o metilo opcionalmente sustituido.

7. Una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en la que en la fórmula I, cada  $R^2$  representa un átomo de hidrógeno.

40

8. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 4, que es una sal de adición de ácido sulfónico del éster de metilo del 5-ALA o el éster de hexilo del 5-ALA.

9. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 1 o la reivindicación 8, en la que dicho ácido es el  
45 ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido dodecilsulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido etanosulfónico, o ácido (+)-canfor-10-sulfónico.

10. Una sal de adición de ácido según cualquier reivindicación precedente, en la que dicho ácido es  
50 farmacéuticamente aceptable.

11. Un procedimiento para preparar una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, comprendiendo dicho procedimiento hacer reaccionar un éster del ácido 5-aminolevulínico con un ácido como se define en la reivindicación 1.

12. Un procedimiento para preparar una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, comprendiendo dicho procedimiento la reacción del ácido 5-aminolevulínico, o un derivado esterificable del mismo, con un alcohol o un derivado del mismo que forma éster, en presencia de un ácido como se define en la reivindicación 1.
- 5 13. Un procedimiento según la reivindicación 12, que comprende la reacción del ácido 5-aminolevulínico, o un derivado esterificable del mismo, con un alcohol.
14. Un procedimiento para preparar una sal de adición de ácido según una cualquiera de las  
10 reivindicaciones 1 a 10, comprendiendo dicho procedimiento:
- (i) poner en contacto una disolución que comprende un compuesto de fórmula  $\text{Cl}^- \text{R}^2\text{N}^+\text{H}-\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}^1$ , en la que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son como se definen en la reivindicación 1, con una resina básica de intercambio aniónico;
- 15 (ii) opcionalmente separar dicha resina; y
- (iii) mezclar la disolución resultante con una disolución que comprende un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico.
- 20 15. Un procedimiento según la reivindicación 14, en el que dicha sal de adición de ácido es un compuesto de fórmula I como se define en la reivindicación 4.
16. Un procedimiento para preparar una sal de adición de ácido según una cualquiera de las  
25 reivindicaciones 1 a 10, comprendiendo dicho procedimiento:
- (i) hacer reaccionar un compuesto de fórmula  $\text{Cl}^- \text{R}^2\text{N}^+\text{H}-\text{CH}_2\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}^1$ , en la que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son como se definen en la reivindicación 1, con una sal de plata de un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico, en un disolvente en el que el  $\text{AgCl}$  es sustancialmente insoluble; y
- 30 (ii) opcionalmente separar el  $\text{AgCl}$  de la sal resultante.
17. Un procedimiento según la reivindicación 16, en el que dicha sal de adición de ácido es un compuesto de fórmula I como se define en la reivindicación 4.
- 35 18. Una composición farmacéutica que comprende una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, junto con al menos un vehículo o excipiente farmacéutico.
19. Una sal de adición de ácido o composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y 18,  
40 para usar como un medicamento.
20. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 19, para usar en terapia fotodinámica.
21. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 19, para usar en fotoquimioterapia.
- 45 22. Una sal de adición de ácido según la reivindicación 21, para el tratamiento de trastornos o anomalías de superficies externas o internas del cuerpo que son sensibles a la fotoquimioterapia.
23. Uso de una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y 18, para  
50 preparar un agente terapéutico para usar en fotoquimioterapia.
24. Un producto que comprende una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y 18, junto con al menos un agente ayudante de la penetración en la superficie, y opcionalmente uno o más agentes quelantes, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el  
55 tratamiento de trastornos o anomalías de superficies externas o internas del cuerpo que son sensibles a la fotoquimioterapia.
25. Un kit para usar en la fotoquimioterapia de trastornos o anomalías de superficies externas o internas del cuerpo que comprende:
- 60 a) un primer envase que contiene una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y 18,
- b) un segundo envase que contiene al menos un agente ayudante de la penetración en la superficie; y  
65 opcionalmente

c) uno o más agentes quelantes contenidos en dicho primer envase o en un tercer envase.

26. Un procedimiento de diagnóstico in vitro de anomalías o trastornos, mediante el ensayo de una muestra de fluido corporal o tejido de un paciente, comprendiendo dicho procedimiento al menos las siguientes 5 etapas:

i) mezclar dicho fluido corporal o tejido con una sal de adición de ácido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y 18,

10 ii) exponer dicha mezcla a la luz,

iii) determinar el nivel de fluorescencia, y

iv) comparar el nivel de fluorescencia con los niveles de control.



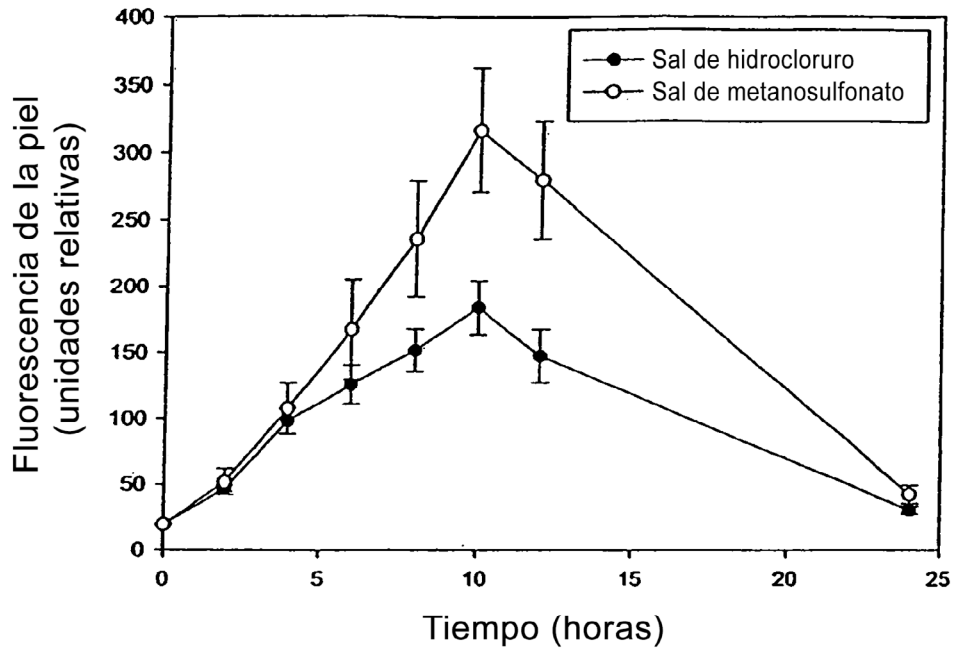


Figura 1

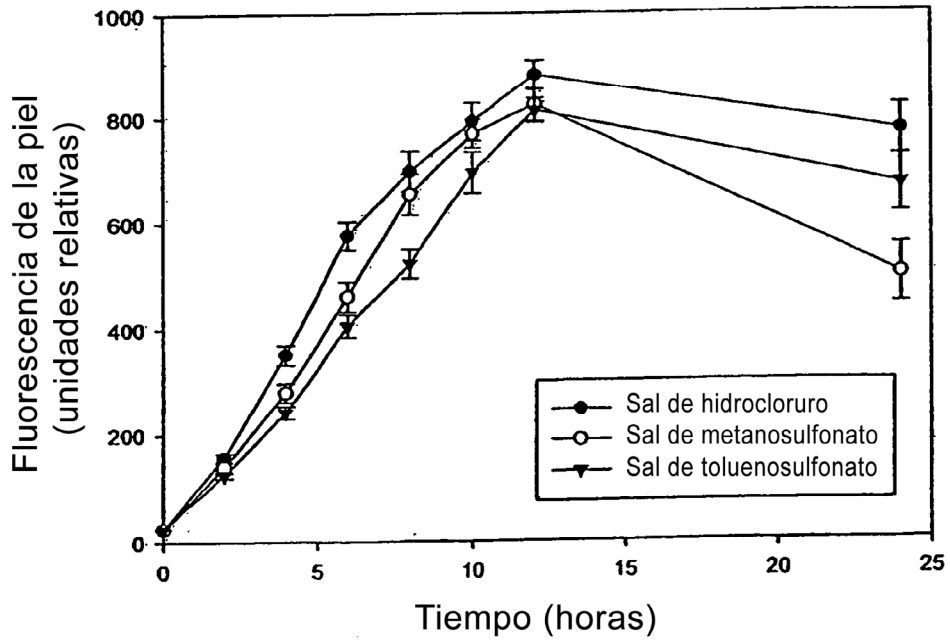


Figura 2

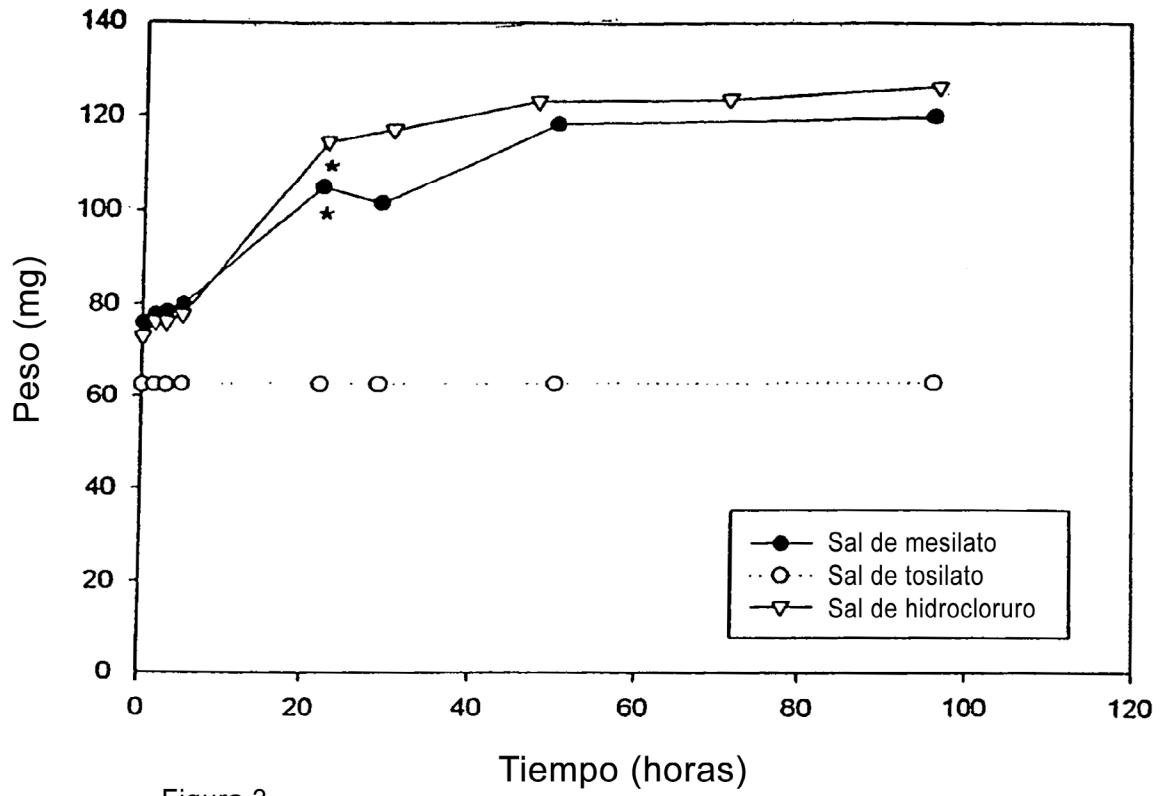


Figura 3

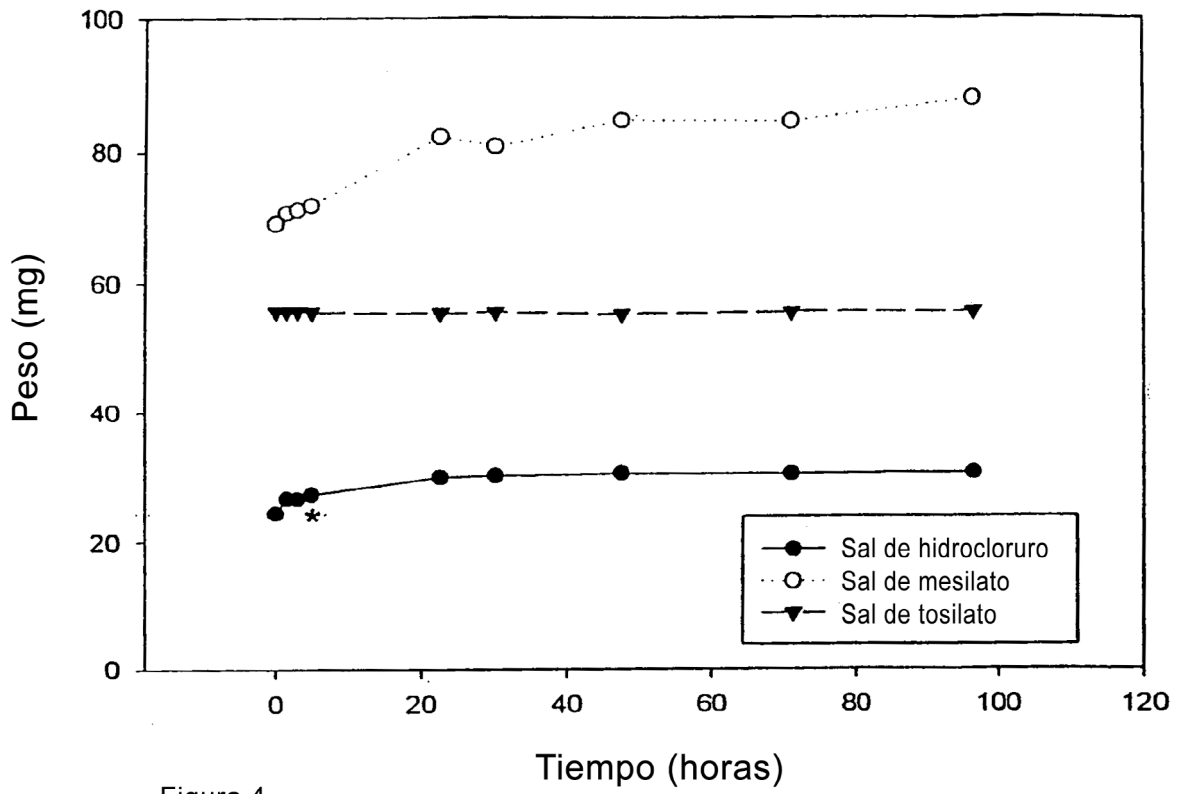


Figura 4