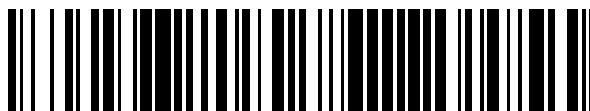


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 547 117**

51 Int. Cl.:

A61K 31/155 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 33/02 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

A61K 31/222 (2006.01)

C07C 251/66 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.02.2009 E 09705303 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2015 EP 2249821**

54 Título: **Utilización de ésteres de ácidos amidoxima-carboxílicos y de ésteres de ácidos N-hidroxi guanidino-carboxílicos para la preparación de profármacos**

30 Prioridad:

01.02.2008 DE 102008007381

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.10.2015

73 Titular/es:

**DRITTE PATENTPORTFOLIO
BETEILIGUNGSGESELLSCHAFT MBH & CO. KG
(100.0%)
Berliner Strasse 1
12529 Schönefeld / Waltersdorf, DE**

72 Inventor/es:

**CLEMENT, BERND;
REEH, CHRISTIANE y
HUNGELING, HELEN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 547 117 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

Utilización de ésteres de ácidos amidoxima-carboxílicos y de ésteres de ácidos N-hidroxiguanidino-carboxílicos para la preparación de profármacos

5 El presente invento se refiere a una utilización de un éster de un ácido amidoxima-carboxílico en el caso de un procedimiento para el mejoramiento de la biodisponibilidad de unos medicamentos, que tienen por lo menos una o varias funciones de amidina, guanidina, N-hidroxiamidina (amidoxima) o respectivamente N-hidroxiguanidina, y a unos medicamentos que contienen unas sustancias medicamentosas correspondientemente modificadas.

10 Las N-hidroxiamidinas (amidoximas) y las N-hidroxiguanidinas constituyen unos conocidos principios de profármacos para el aumento de la biodisponibilidad por vía oral de las amidinas [Clement, B. Methoden zur Behandlung und Prophylaxe der Pneumocystis carinii Pneumonie (PCP) und anderen Erkrankungen sowie Verbindungen und Formulierungen zum Gebrauch bei besagten Methoden (Métodos para el tratamiento y la profilaxis de la neumonía causada por Pneumocystis carinii (PCP) y de otras enfermedades, así como unos compuestos y unas formulaciones para su uso en dichos métodos. P 432444.4, 1993] y unas guanidinas.

15 Las composiciones farmacéuticas, que contienen una sustancia activa con una o varias funciones de amidinas o guanidinas, no muestran casi ningún efecto farmacológico en el caso de un uso por vía oral. La premisa para un efecto terapéutico de una sustancia activa después de una administración por vía oral la constituye su absorción desde el tracto gastrointestinal. El mecanismo más importante de un tal efecto es la difusión pasiva. El grado de la resorción por la ruta de la difusión pasiva es dependiente de la lipofilia y, por consiguiente, también dependiente de la acidez y de la basicidad de la sustancia activa.

20 Unos compuestos de carácter fuertemente básico, tales como las amidinas y las guanidinas, se presentan casi totalmente protonados en el estómago (valor del pH 1) y en el intestino delgado (valor del pH 6,4). Una resorción después de una administración por vía oral, que requiere el paso a través de las bicapas lipídicas de las membranas del tracto intestinal, se efectúa por lo tanto sólo en muy escasa medida.

25 Otro problema en el caso del tratamiento medicamentoso de muchas enfermedades es la necesidad de atravesar la barrera hematoencefálica. La barrera hematoencefálica constituye una barrera efectiva en lo que respecta a la resorción de sustancias dentro del cerebro. Ella asegura la absorción selectiva e impide la penetración de ciertas sustancias. Además de esto, la barrera hematoencefálica funciona no sólo como una barrera física, sino también como una barrera enzimática. En la penetración de ciertas sustancias en el cerebro participan diversos procesos. En el comercio se encuentran, en comparación con otras indicaciones, sólo unos pocos medicamentos que desarrollan su efecto en el sistema nervioso central (acrónimo SNC). Entre éstos, la parte predominante accede por difusión al SNC. Por esta vía se tratan unas enfermedades tales como la epilepsia, los dolores crónicos o las depresiones. Otros graves trastornos funcionales tales como, por ejemplo, los tumores cerebrales o la esclerosis lateral amiotrófica todavía no se pueden tratar hoy en día [PARDRIDGE, W. M. NeuroRx2005, 2, 3-14]. Con el fin de poder superar la barrera hematoencefálica mediante una difusión pasiva, una sustancia tiene que ser lipófila, tiene que poseer un peso molecular más pequeño que 400-500 Da, y tiene que presentarse en estado no cargado eléctricamente. Con el fin de resorber específicamente unas moléculas pequeñas, tales como las de la glucosa o los aminoácidos, diversos sistemas transportadores, tales como por ejemplo los transportadores de nucleósidos, los transportadores de influjo y eflujo para aniones orgánicos, los transportadores de glucosa, los transportadores de péptidos y los transportadores de aminoácidos son expresados junto a la barrera hematoencefálica [TAMAI, I.; TSUJI, A. J Pharm Sci 2000, 89, 1371-1388 UND DE BOER, A.; VAN DER SANDT, I. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2003, 43, 629-656]. Unas moléculas más grandes, tales como las del receptor de insulina o de transferrina que contiene hierro, son absorbidas por la vía del transporte mediado por un receptor. En este caso, especialmente los receptores de la insulina y de la transferrina desempeñan un gran cometido [DE BOER, A.; VAN DER SANDT, I. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2003, 43, 629-656; PARDRIDGE, W. M. Mol Interv 2003, 3, 90-105]. Con el ejemplo del aminoácido L-dopa se ha aprovechado un principio de un profármaco, para que la dopamina, una catecolamina que es soluble en agua, pueda superar la barrera hematoencefálica. El transporte tiene lugar por medio del transportador de aminoácidos LAT1 (en inglés "large neutral amino acid transporter", transportador de aminoácidos neutros grandes). Después del paso se efectúa la descarboxilación para dar la dopamina [PARDRIDGE, W. M. Mol Interv 2003, 3, 90-105].

50 Las diamidinas se emplean como unas sustancias antiparasitarias contra la malaria, contra la neumonía de Pneumocystis jiroveci (anteriormente carinii), contra la tripanosomiasis (la enfermedad del sueño africana) y contra la leishmaniasis [WERBOVETZ, K. Curr Opin Investig Drugs 2006, 7, 147-157]. En particular en los países en vías de desarrollo, estas enfermedades constituyen un problema que se debe de tomar en serio con unas elevadas tasas de mortalidad.

55 En el comercio se encuentran tres diamidas que se deben aplicar por vía parenteral. La pentamidina (Pentacarinat[®]) se emplea ya desde hace 60 años en el estadio precoz de la enfermedad del sueño africana. En el 2^a estadio de la enfermedad del sueño africana, el estadio meningoencefálico, ya no se presenta ninguna actividad, puesto que no se puede atravesar con éxito la barrera hematoencefálica. Por lo tanto, se tienen que administrar ciertos compuestos

de arsénico, que son muy tóxicos. Existe una deficiencia de unas sustancias medicamentosas que actúen en el 2º estadio de la enfermedad del sueño africana.

5 Ha de suponerse que todas las sustancias activas, que tienen una amidina o una guanidina como un grupo funcional, manifiestan una insuficiente resorción en el caso del uso por vía oral, cuando éstas sólo pueden ser absorbidas mediante una difusión pasiva.

Unas sustancias medicamentosas con ácidos carboxílicos están muy ampliamente propagados y se pueden usar también como unas formas medicamentosas por vía oral. En el presente caso se han de mencionar todos los agentes analgésicos tomados del conjunto que se compone de los derivados de los ácidos acético, propiónico y salicílico.

10 Los derivados hidroxilados en N, tales como las amidoximas y las N-hidroxiguanidinas, muestran una basicidad más pequeña mediante la introducción del átomo de oxígeno. En condiciones fisiológicas, ellos no se presentan protonados. La benzamidoxima constituye un compuesto modelo para muchas sustancias medicamentosas, que contienen una función de amidoxima [Clement, B. Drug Met Rev 2002, 34, 565-579].

15 La pentamidina y el diminazen constituyen unas diamidinas y no son resorbidos después de una aplicación por vía oral. Por lo tanto, ellas fueron transformadas en profármacos de amidoxima (véase el documento de solicitud de patente alemana DE 10 2006 034 256.9).

20 Con el ejemplo de la pentamidina se pone de manifiesto que con la transformación en el éster de pentoxima va acompañada también una disminución de la solubilidad. Probablemente este hecho constituye también la causa de que la biodisponibilidad de la pentamidina no sea de ciento por ciento después de una aplicación por vía oral del éster de pentoxima [Clement B.; Bürenheide A.; Rieckert W.; Schwarz J. ChemMedChem 2006, 1, 1260-7].

Por lo demás, la disminuida solubilidad en agua conduce a la desventaja de que ya no sea posible realizar una administración del medicamento mediante la inyección de unas soluciones acuosas. Este hecho constituye un problema en particular cuando ya no entre en cuestión una administración por vía oral.

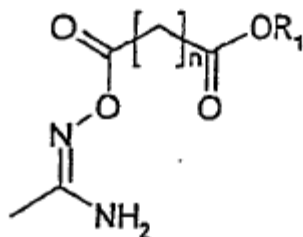
25 Por lo tanto, es una misión del presente invento aumentar la solubilidad en agua y por consiguiente también la biodisponibilidad por vía oral de unas sustancias, que habían sido transformadas en profármacos de la amidoxima o respectivamente de la N-hidroxiguanidina.

El problema planteado por esta misión se resuelve mediante la utilización conforme al invento con las características de acuerdo con la reivindicación 1. Las reivindicaciones subordinadas indican unas realizaciones ventajosas del invento.

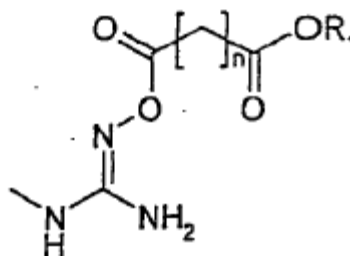
30 Descripción del invento

Conforme al invento se propone utilizar unos ésteres de ácidos amidoxima-carboxílicos (I) y de ácidos N-hidroxiguanidino-carboxílicos (II) de las fórmulas:

(I)



(II)



35 siendo válido para n que n = 0 - 12, y que R₁ representa hidrógeno, un radical alquilo o arilo, o unas sales de éstos, como reemplazo de una o varias funciones de amidina, N-hidroxiamidina (amidoxima), guanidina o respectivamente N-hidroxiguanidina de una sustancia medicamentosa, en unos medicamentos que están destinados al mejoramiento de la solubilidad y de la biodisponibilidad de la sustancia medicamentosa.

Si n se escoge mayor que 12, entonces ya no se presentará ningún mejoramiento de la solubilidad, de la biodisponibilidad ni de la capacidad de pasar a través de la barrera hematoencefálica.

40 Las N-hidroxiamidinas (amidoximas) y las N-hidroxiguanidinas constituyen unos exitosos principios de profármacos para el aumento de la biodisponibilidad por vía oral de las amidinas (véase el documento DE 10 2006 034 256.9).

La esterificación propuesta conforme al invento de las amidoximas o respectivamente de las N-hidroxi guanidinas con unos ácidos dicarboxílicos y unos ésteres de ácidos dicarboxílicos mejora considerablemente la solubilidad, en particular la solubilidad en unos medios acuosos, y la biodisponibilidad en comparación con los profármacos conocidos.

5 La esterificación de las amidoximas o respectivamente de las N-hidroxi guanidinas con unos ácidos dicarboxílicos y ésteres de ácidos dicarboxílicos representa, debido a la carga eléctrica negativa introducida que procede de la función de ácido desprotonada, una inversión de la polaridad de las cargas eléctricas en comparación con la benzamidina, y por consiguiente se da lugar a una aumentada biodisponibilidad y solubilidad en unos medios acuosos.

10 La ventaja especial de los compuestos conformes al invento reside en el hecho de que ellos se presentan desprotonados en la sangre y de esta manera actúan como un substrato para el transportador de aniones orgánicos (en inglés "organic anion transporter (con el acrónimo OAT)"), y en que por esta ruta muestran una absorción manifiestamente mejorada desde el tracto intestinal y por consiguiente una biodisponibilidad aumentada. Este hecho constituiría un progreso decisivo en la terapia de la enfermedad del sueño africana, puesto que también se puede tratar eficazmente la 2ª fase de la enfermedad.

Mediante la introducción de unos ácidos carboxílicos son también posibles unas formas medicamentosas inyectables, puesto que, como en el caso de las amidinas, se ha restablecido la solubilidad en agua. Esto es válido particularmente bien en el caso de que R_1 sea igual a hidrógeno.

20 De acuerdo con la utilización conforme al invento, mediante el reemplazo de por lo menos una o varias funciones de amidina, N-hidroxi amidina (amidoxima), guanidina o respectivamente N-hidroxi guanidina por los ésteres de ácidos amidoxima-dicarboxílicos y los ésteres de ácidos N-hidroxi guanidina-dicarboxílicos se consigue aumentar la solubilidad de la respectiva sustancia medicamentosa. De esta manera, después de una administración por vía oral, él puede ser resorbido eficazmente y a continuación puede ser transformado de retorno en la forma activa propiamente dicha, la amidina o respectivamente la guanidina, por unas esterasas y unas N-reductasas propias del cuerpo (el principio de profármaco). La sobresaliente resorbibilidad de la función de amidoxima o respectivamente de N-hidroxi guanidina modificada en el tracto intestinal se debe de atribuir manifiestamente a la solubilidad aumentada de las moléculas de las sustancias activas.

Es suficiente que la sustancia activa contenga por lo menos una o varias funciones activas de amidina, N-hidroxi amidina (amidoxima), guanidina o respectivamente N-hidroxi guanidina en la forma propuesta. La sustancia activa puede contener conforme a ello p.ej. varias funciones de amidoxima (p.ej. dos tal como en el caso del éster de pentoxima) o respectivamente de N-hidroxi guanidina, estando modificado entonces por lo menos uno de estos grupos del modo precedentemente descrito. Exactamente de igual manera se pueden emplear también unas mezclas de sustancias activas, siempre y cuando que por lo menos una sustancia activa tenga una o varias funciones de amidina, N-hidroxi amidina (amidoxima), guanidina o respectivamente N-hidroxi guanidina. La forma de presentación para la vía oral puede estar constituida como una composición líquida, semisólida o sólida, en particular como una tableta, una gragea, un gránulo comprimido o una microcápsula. En este caso, para aquellas formas de realización en las que se emplean unas composiciones líquidas, la sustancia activa o respectivamente la mezcla de sustancias activas se recoge en un disolvente apropiado, no tóxico, tal como por ejemplo agua, unos alcoholes univalentes, en particular el etanol, unos alcoholes plurivalentes, en particular el glicerol y/o el propanodiol, unos poliglicoles, en particular unos poli(etilen-glicoles) y/o el miglitol, el formal de glicerol, el dimetil-sorbitol o en unos aceites naturales o sintéticos. Para la preparación de unas composiciones semisólidas o sólidas, pasan a utilizarse las masas de base usuales, tales como por ejemplo una bentonita, el Veegum, una harina de guar y/o unos derivados de celulosas, en particular una metilcelulosa y/o una carboximetilcelulosa, así como unos polímeros a base de alcoholes vinílicos y/o vinil-pirrolidonas, alginatos, pectinas, poliacrilatos, poli(etilen-glicoles) sólidos y/o líquidos, parafinas, alcoholes grasos, vaselinas y/o ceras, ácidos grasos y/o ésteres de ácidos grasos.

Por lo demás, en unas composiciones sólidas pueden estar contenidos los agentes extendedores de por sí conocidos, tales como, por ejemplo, un ácido silícico coloidal, un talco, una lactosa, un polvo de almidón, unos azúcares, unas gelatinas, unos óxidos de metales y/o unas sales de metales. Como otros aditivos se recomiendan unos agentes estabilizadores, unos agentes emulsionantes, unos agentes dispersivos así como unos agentes conservantes.

Las formas medicamentosas modificadas de acuerdo con la utilización conforme al invento tienen en el caso de la administración por vía oral una sobresaliente resorbibilidad y por consiguiente una sobresaliente biodisponibilidad, con lo cual se aumenta manifiestamente el efecto farmacológico de la amidina o respectivamente de la guanidina. Por lo tanto, se puede poner a disposición ahora una óptima forma medicamentosa para el uso por vía oral de las amidinas.

La utilización conforme al invento adquiere una importancia especial a través del hecho de que los grupos funcionales de amidina y guanidina son unas partes componentes esenciales de diversas sustancias activas que son importantes para diferentes sectores de uso. Ellos son, entre otros, una parte componente de las siguientes clases de sustancias activas o respectivamente de sustancias activas: sustancias inhibidoras de proteasas

(sustancias inhibidoras de la trombina, tales como melagatran, sustancias inhibidoras del factor Xa, del factor VII o respectivamente de todas las proteasas de la cascada de coagulación; sustancias inhibidoras de la matriptasa), agentes anticoagulantes, agentes trombolíticos, agentes antifibrinolíticos, compuestos intercaladores de ADN y ARN (tales como la pentamidina, el diminazen, el isometamidio), agentes antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato y sustancias inhibidoras de enzimas víricas (tales como p.ej. sustancias inhibidoras de la neuraminidasa).

Unas sustancias activas, que contienen una función eficaz de amidina o respectivamente guanidina se pueden emplear, entre otras cosas, para la inhibición de la coagulación de la sangre, para la profilaxis y la terapia de la leishmaniasis cutánea, de la tripanosomiasis (la enfermedad del sueño africana), de la neumonía causada por *Pneumocystis carinii* (PCP), para la inhibición del crecimiento de tumores malignos, para la disminución de la presión sanguínea, la neuroprotección, así como para combatir ciertas infecciones víricas tales como la influenza y unas infecciones causadas por el VIH (virus de la inmunodeficiencia humana).

Las enumeraciones antes mencionadas son sólo ejemplificativas y el invento comprende fundamentalmente todas las sustancias activas, que tienen por lo menos una función de amidina o respectivamente una función de guanidina, que había sido transformada en un profármaco mejorado. El procedimiento conforme al invento es utilizable por consiguiente en un sector muy amplio de clases de sustancias activas e indicaciones, y puede aumentar la biodisponibilidad de muchas sustancias medicamentosas, cuya forma activa contiene una amidina o respectivamente una guanidina.

Como ejemplos de unos compuestos modificados de acuerdo con el procedimiento conforme al invento se han de citar la *O*-succinil-benzamidoxima, el éster con pentamidina del ácido succínico y el éster con diminazen del ácido succínico.

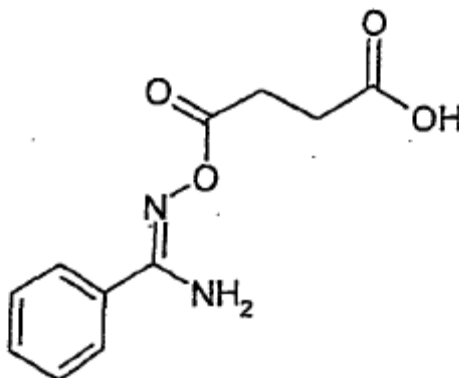
La composición conforme al invento se ilustra más detalladamente con ayuda de los Ejemplos de realización:

La composición conforme al invento se ilustra más detalladamente con ayuda de unos Ejemplos de realización en el capítulo "Material y métodos".

Material y métodos

1) Ejemplo de realización 1:

O-succinil-benzamidoxima



1,0 g de benzamidoxima se disolvieron en 40 ml de acetona anhidra. Después de la adición de 1,64 g de anhídrido de ácido succínico, se agitó durante cuatro horas bajo reflujo. La compleción de la conversión química se comprobó mediante una DC (acrónimo del alemán "Dünnschicht-Chromatographie", cromatografía de capa fina). Después de haberse terminado la reacción, el disolvente se retiró completamente y el producto en bruto se recristalizó en tolueno.

Rendimiento: 82 %

Punto de fusión: 151°C

IR (KBr):

$\nu = 3.648, 3.480, 3.062, 2.912, 1.744, 1.704, 1.614, 1.368 \text{ cm}^{-1}$.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6):

δ/ppm (TMS) = 2,55 (t, 2H, $^3J = 6,9 \text{ Hz}$, CH₂), 2,69 (t, 2H, $^3J = 6,9 \text{ Hz}$, CH₂), 6,75 (s, 2H, NH₂), 7,44 (m, 3H, Ar-H), 7,70 (m, 2H, Ar-H), 12,20 (s, 1H, COOH).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, DMSO- d_6):

δ /ppm (TMS) = 27,86 (CH₂), 28, 72 (CH₂), 126,66 (C_{Ar} 2,6), 128,26 (C_{Ar} 3,5), 130,36 (C_{Ar} 1), 131,59 (C_{Ar} 4), 156,56 (C-NH₂), 170,19 (C=O), 173,50 (COOH).

EM(ESI):

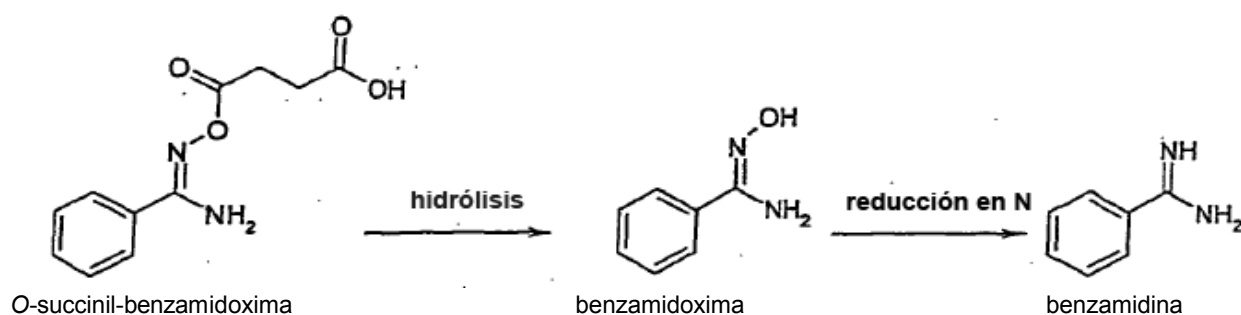
5 m/z (%) = 495 [2M+Na+H⁺] (100), 259 [M+Na+H⁺] (20), 237 [M+H⁺] (43), 137 [BAO+H⁺] (35), 121 [BA+H⁺] (13), 119 [C₄H₆O₄+H⁺] (70).

C₁₁H₁₂N₂O₄ (236,23):

Calc. C 55,93% H 5,12% N 11,86%

Enc. C 55,88% H 5,19% N 11,55%

10 Para la detección de la resorción desde el tracto intestinal y la subsiguiente reducción para dar la benzamidina, se escoge la O-succinil-benzamidoxima como compuestos modelo para los nuevos principios de profármacos, y ésta se administra por vía oral a en cada caso tres ratas. La metabolización de los dos ésteres para dar la benzamidina transcurre en este caso *in vivo* de la siguiente forma:



15 El metabolismo del éster con diminazen del ácido succínico y del éster con pentamidina del ácido succínico se han representado en las Figs. 2-3 en el anexo.

MÉTODOS REFERENTES A LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO CON RATAS

El ensayo con animales fue autorizado por el Ministerio de Agricultura, Medio Ambiente y Zonas Rurales del estado federal Schleswig-Holstein, el 04.07.2007.

20 La narcosis se efectúa mediante xilazina y ketamina. Las dos se inyectaron por vía i.m. (intramuscular). Los catéteres de silicona se implantan en la vena yugular y en la arteria carótida. Ellas poseen unas propiedades antitrombóticas y antiinflamatorias locales, pero no actúan sistémicamente. Los ojos fueron protegidos durante la operación mediante una pomada protectora de la córnea (Oculotect[®]), así como se aplicaron 3-4 ml de una solución de Ringer y lactato por vía s.c. (subcutánea) para el mejoramiento del abastecimiento postoperatorio de energía. Los animales fueron tratados antiflogísticamente (con Finadyne[®], 1 mg/kg de PC, acrónimo de "peso corporal") y antibióticamente (con Amoxicillin[®] al 15 %, 10 mg/kg de PC), y fueron atendidos postoperativamente hasta que se despertaron y fueron mantenidos en caliente. En el día después de la operación, los animales reciben Nutri plus[®], una pasta energética (aceite de soja, melaza, aceite de hígado de bacalao, un extracto de carne, una mezcla previa de sustancias minerales, una mezcla previa de vitaminas).

30 Los animales son eutanizados después de haberse terminado el ensayo con pentobarbital (por vía i.v. (intravenosa)).

CRÍA DE LAS RATAS

35 Como animales de ensayo sirven unas ratas Wistar machos con un peso promedio de 200 g. Los animales son criados individualmente en jaulas. Una vez cada dos días ellos recibieron un pienso concentrado. El agua y el pienso seco están a disposición *ad libitum*.

Aplicación DE LAS SUSTANCIAS

40 Con el fin de poder determinar la dosificación exacta de las sustancias, los animales se pesan por la noche antes de la aplicación de las sustancias. Las sustancias que deben de ser administradas por vía oral (los profármacos) son aplicadas a través de una sonda esofágica. Para esto, la O-succinil-benzamidoxima se disuelve en un tampón de fosfato 100 mM, de pH 8,5. La benzamidina que se ha administrada por vía intravenosa se disuelve en una solución de NaCl al 0,9 %, con el fin de impedir una hemólisis. Después de la inyección se enjuaga posteriormente otra vez con por lo menos 0,5 ml de la solución de NaCl al 0,9 %. La aplicación de la sustancia se efectúa en cada caso por la mañana.

Los profármacos se aplican a tres ratas. La benzamidina se aplica a dos ratas por vía intravenosa. Las dosis administradas por vía oral de la O-succinil-benzamidoxima fueron de 50 mg/kg de PC. La benzamidina se aplicó en una concentración de 10 mg/kg de PC.

EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE

- 5 A partir de una rata se pueden obtener seis muestras de sangre. El período de tiempo de ensayo para una condición dura un día. Las muestras de sangre son obtenidas a lo largo de un período de tiempo de ocho horas, después de una aplicación por vía oral, o respectivamente de seis horas, después de una aplicación por vía intravenosa. Tras una administración por vía oral, se efectúa la extracción de las muestras después de 30, 60, 90, 120, 240 y 480 minutos, y tras una aplicación por vía intravenosa ésta se efectúa después de 5, 10, 20, 40, 80 y 360 minutos. Antes de la extracción de la sangre se vacía el catéter mediante una breve aspiración hasta que aparezca la sangre. La extracción de sangre (300 µl) se efectúa mediante unas "Multivetten" (Multivetten® 600, de Sahrstedt, Nümbrecht). Para mantener libre el catéter, se inyectan posteriormente aprox. 0,3 ml de una mezcla a base de heparina y NaCl. La sangre entera obtenida se centrifuga (1.500 g, 10 min, 4°C). Después de la centrifugación, se retiran aprox. 150 µl de plasma como un material sobrenadante, se pipetea en recipientes de Eppendorf y se congelan a -80°C.

15 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE SANGRE

- Después de una lenta descongelación se diluyen 150 µl de un plasma con agua bidestilada hasta un volumen de 600 µl. A continuación, las muestras de sangre se tratan mediante una extracción en fase sólida. Después de haber acondicionado la columna con 1.000 µl de metanol y de haber equilibrado con 1.000 µl de agua bidestilada, se efectúa la aplicación de una muestra (600 µl). El agente sorbente se lava después de la aplicación de la muestra con 600 µl de agua bidestilada. La elución de las sustancias se efectúa mediante una mezcla de agua bidestilada de pH 3 y metanol (6/4, V/V). Después de esto, el material eluido se concentra por evaporación hasta sequedad y se recoge con 100 µl de una mezcla de agua bidestilada y metanol (9/1, V/V) y se aporta a la HPLC (cromatografía de fase líquida de alto rendimiento).

ANALÍTICA POR HPLC PARA LA SEPARACIÓN DE BENZAMIDOXIMA Y BENZAMIDINA

- 25 Para la separación de las sustancias que deben de ser analizadas se utilizó el siguiente método de HPLC

Bomba de HPLC:	Waters 600
Detector	Waters 2417 Tunable Absorbance Detektor
Automuestreador:	Waters 717 plus Autosampler
Integrador:	EZChrom™ Elite Client/Server Version 2.8.3 Build 2249 software de registro y evaluación
Fase estacionaria:	Synergy Max-RP 80A; 250*4,6 mm con una columna preliminar C 18 de 4,0 * 3,0 mm (de Phenomenex, Aschaffenburg)
Temperatura de la columna:	24°C constantes, mediante un horno de columna
Fase móvil:	un octilsulfonato 10 mM en agua bidestilada, pH 2,5 (con H ₃ PO ₄ concentrado)/acetonitrilo (82,5/17,5, V/V)
Período de tiempo de elución	30 minutos
Detección:	detector de UV, 229 nm
Caudal de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	10 µl
Sensibilidad del detector:	Absorbance units fullscale (en unidades de absorbencia a plena escala): 2,000

ES 2 547 117 T3

Períodos de tiempo de retención: benzamidoxima: 23,5 ± 0,5 min
benzamidina: 26,5 ± 0,5 min

El eluyente se desgasificó con un filtro de membrana de Satorius (de 0,45 µm), y se desgasificó en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos.

ANALÍTICA POR HPLC PARA EL ANÁLISIS DE LA O-SUCCINIL-BENZAMIDOXIMA, LA BENZAMIDOXIMA Y LA BENZAMIDINA

5 Para la separación de las sustancias que deben de ser analizadas se utilizó el siguiente método de HPLC

Bomba de HPLC: Waters 600

Detector: Waters 2417 Tunable Absorbance Detektor

Autosampler: Waters 717 plus Autosampler

Integrador: EZChrom™ Elite Client/Server Version 2.8.3 Build 2249
software de registro y evaluación

Fase estacionaria: Synergy Max-RP 80A; 250 # 4,6 mm con una columna preliminar C 18 4,0 # 3,0 mm (Phenomenex, Aschaffenburg)

Fase móvil: tampón de fosfato 100 mM en agua bidestilada, de pH 7,0 (con KOH al 30 %) / acetonitrilo (92/8), V/V

Período de tiempo de elución: 25 minutos

Detección: 229 nm

Caudal de flujo: 1,0 ml/min

Volumen de inyección: 10 µl

Sensibilidad del detector: Absorbance units fullscale: 2,000

Períodos de tiempo de retención: benzamidina: 5,3 ± 0,3 min
O-succinil-benzamidoxima: 11,7 ± 0,3 min
benzamidoxima: 15,2 ± 0,3 min

El eluyente se filtró con un filtro de membrana de Sartorius (de 0,45 µm) y se desgasificó en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos.

A partir de los datos obtenidos se determinó la biodisponibilidad oral de la benzamidina después de una administración por vía oral de la O-succinil-benzamidoxima (Tabla 1):

10 Tabla 1: Biodisponibilidad de la benzamidina después de una administración por vía oral de la O-succinil-benzamidoxima

	Biodisponibilidad [%]	Valor medio [%]	Desviación típica [%]
Rata 4	19,9		
Rata 10	36,1	31,6	10,2

Rata 21	38,7
---------	------

Tal como se puede deducir de la Tabla superior, la benzamidina posee, después de una administración por vía oral de la O-succinil-benzamidoxima, una biodisponibilidad de 32 %. Este hecho pone de manifiesto que el profármaco es resorbido después de una administración por vía oral y es reducido en la sangre para dar la forma activa.

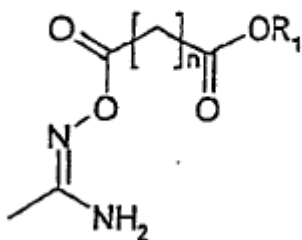
Los resultados de los ensayos se han expuesto en los dibujos adjuntos, en los cuales:

- 5 Fig.1 las curvas del nivel en plasma de la benzamidina después de una aplicación por vía oral de la O-succinil-benzamidoxima
Fig. 2 el metabolismo del éster de ácido diminazen-succínico y

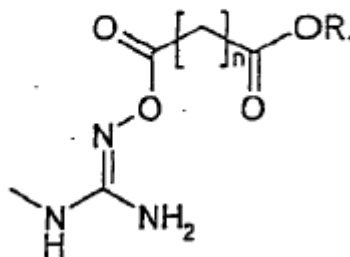
REIVINDICACIONES

1. Utilización de un éster de ácido amidoxima-carboxílico de la fórmula (I) o de un éster de ácido N-hidroxiguanidino-carboxílico de la fórmula (II)

(I)



(II)



5

siendo $n = 0, \dots, 12$, y escogiéndose R_1 entre el conjunto que se compone de hidrógeno, un radical alquilo y un radical arilo y unas sales de éstos, como reemplazo de una o varias funciones de amidina, N-hidroxiamidina (amidoxima), guanidina o respectivamente N-hidroxiguanidina de una sustancia medicamentosa en unos medicamentos destinados al mejoramiento de la solubilidad y/o la biodisponibilidad de la sustancia medicamentosa,

10 **caracterizado por que**

la sustancia medicamentosa se escoge entre el conjunto que se compone de las sustancias inhibidoras de proteasas, siendo la sustancia inhibidora de una proteasa una sustancia inhibidora de la trombina, una sustancia inhibidora del factor Xa, del factor VII o de todas las proteasas de la cascada de coagulación, o una sustancia inhibidora de la matriptasa, los compuestos intercaladores de ADN y ARN, las sustancias inhibidoras de enzimas víricas y del agente antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato.

15

2. Utilización de acuerdo con la reivindicación 1,

caracterizada por que

el compuesto intercalador de ADN y ARN es la pentamidina, el diminazen o el isometamidio.

20

3. Utilización de acuerdo con la reivindicación 1,

caracterizada por que

la sustancia inhibidora de enzimas víricas es una sustancia inhibidora de la neuraminidasa.

4. Utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones precedentes,

caracterizada por que

la sustancia medicamentosa se ha dispuesto para la profilaxis y la terapia de la leishmaniasis visceral y/o cutánea, de la tripanosomiasis, de la 2ª fase de la tripanosomiasis o de la neumonía causada por *Pneumocystis carinii*, para la inhibición del crecimiento de tumores malignos, para la inhibición de la coagulación de la sangre, para la disminución de la presión sanguínea, para la neuroprotección o para combatir ciertas infecciones víricas, inclusive la influenza y unas infecciones causadas por el VIH.

25

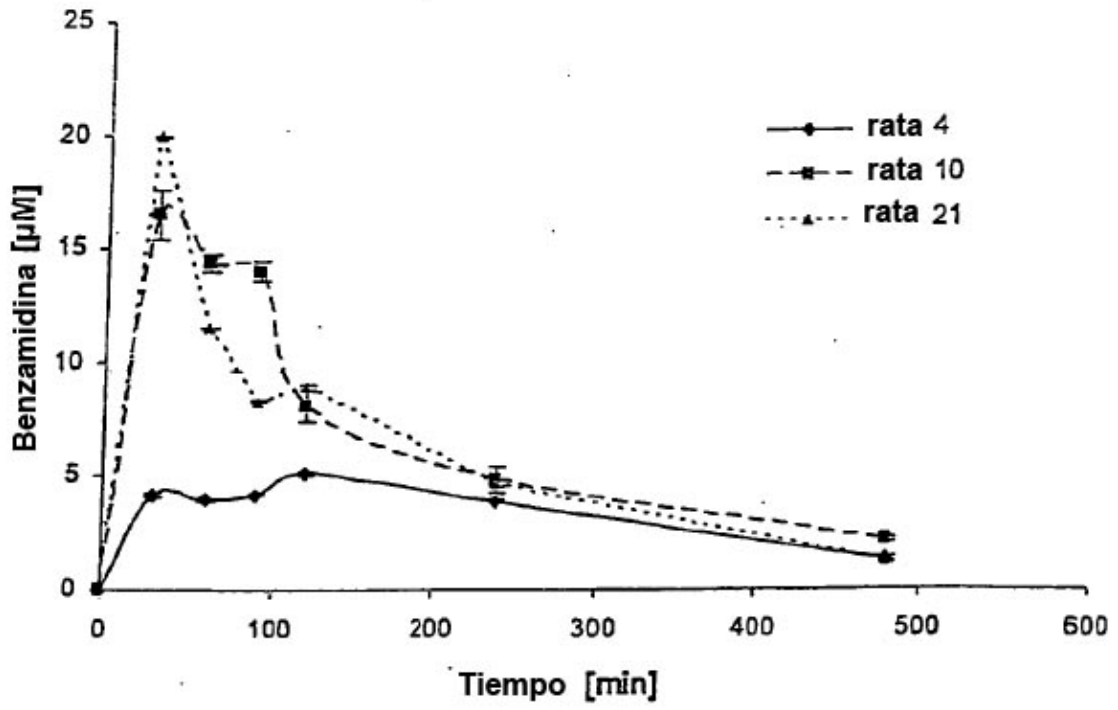


FIG. 1

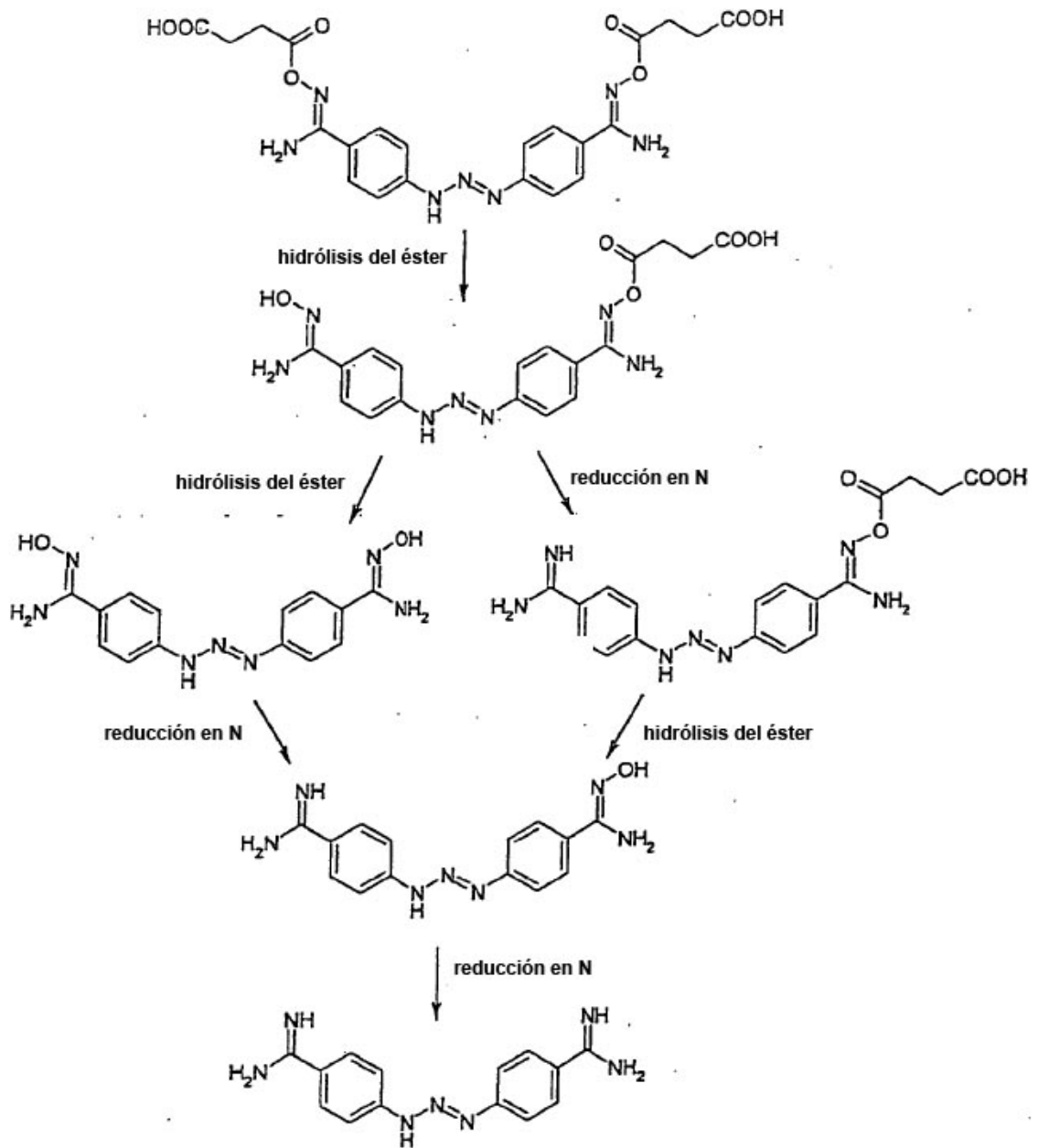


FIG. 2

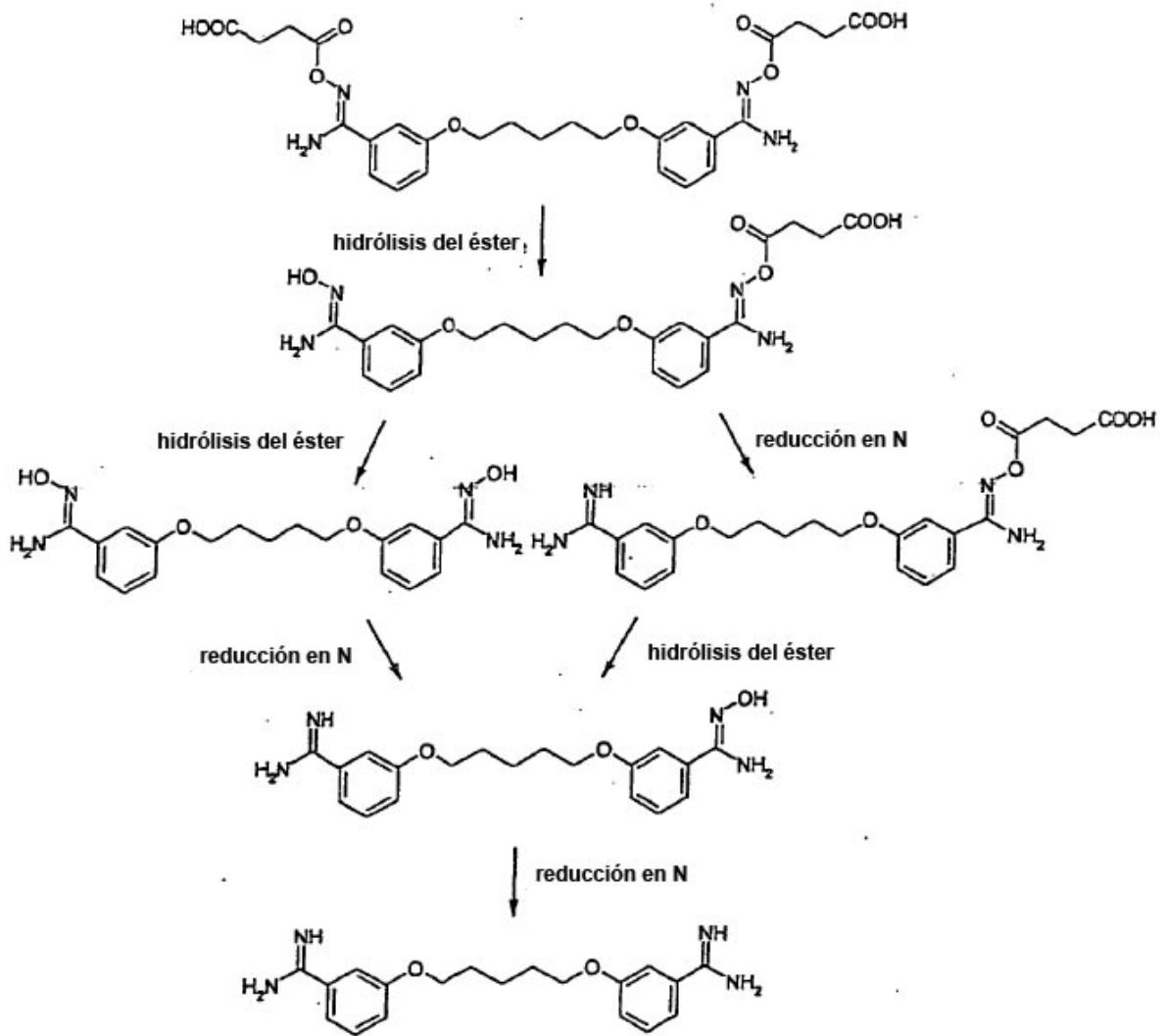


FIG. 3