

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 730 943**

51 Int. Cl.:

A61K 31/513 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

C07D 239/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.10.2011 PCT/RU2011/000792**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2012 WO12064221**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2011 E 11839641 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2019 EP 2638900**

54 Título: **Fármaco para tratar lesiones hepáticas causadas por la acción de agentes químicos o biológicos**

30 Prioridad:

08.11.2010 RU 2010145439

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

13.11.2019

73 Titular/es:

**TETS, VIKTOR VENIAMINOVICH (50.0%)
ul. Lensoveta, 27-95
St. Petersburg, 196066, RU y
TETS, GEORGY VIKTOROVICH (50.0%)**

72 Inventor/es:

KRASNOV, KONSTANTIN ANDREEVICH

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 730 943 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

Fármaco para tratar lesiones hepáticas causadas por la acción de agentes químicos o biológicos

Campo técnico

5 La invención se refiere a la medicina y se puede usar para tratar lesiones hepáticas causadas por agentes químicos o biológicos.

Antecedentes de la técnica

10 Los fármacos conocidos para tratar lesiones hepáticas se basan en agentes orgánicos de origen natural o sintético, p. ej. "Essentiale" que contiene fosfolípidos esenciales como un principio activo. Otro fármaco conocido "Legalon" ("Carsil") dirigido al tratamiento de enfermedades hepáticas, se produce a base de extracto de fruta de cardo de leche. Se conoce otro fármaco más para tratar enfermedades hepáticas, la preparación "Prostenonum", véase el documento RU 1821209 A1.

Essentiale se ha tomado como un prototipo de la presente invención.

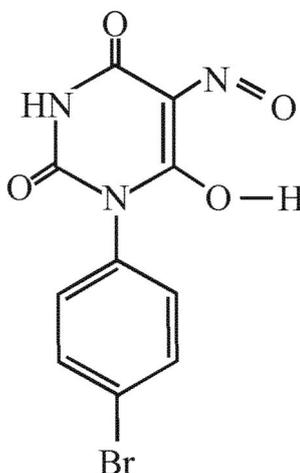
15 La referencia EP 1083172 se refiere a derivados de ácido 5-oximinobarbitúrico N-sustituídos que tienen actividades hepatoprotectoras y más en particular describe un compuesto, denominado producto XXIX, que difiere del compuesto de la invención por su punto de fusión.

Los estudios mostraron que, aunque el prototipo tiene un cierto efecto hepatoprotector, el nivel de este efecto es relativamente bajo. Las sustancias activas de la preparación Essentiale son fosfolípidos, que se encuentran en muchos alimentos y no constituyen un agente con un efecto curativo pronunciado.

Resumen de la invención

20 Un objeto de la presente invención es aumentar la eficacia de la preparación para tratar enfermedades hepáticas de diferentes etiologías. La presente invención es como se define en las reivindicaciones adjuntas.

De acuerdo con la invención el fármaco para tratar lesiones hepáticas causadas por agentes químicos o biológicos está representado por la 1-(4-bromofenil)-6-hidroxi-5-nitroso-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-2,4-diona:



25 Los autores de la invención no han encontrado ninguna fuente de información que contenga datos o soluciones técnicas iguales a la presente invención, lo que permite concluir que la invención se ajusta al criterio de "Novedad" (N).

30 Los autores de la invención no han encontrado ninguna fuente de información que contenga datos sobre la influencia de las características de la invención en el resultado técnico producido por la invención, que consiste en la normalización casi completa y fiable de la afección y funciones del hígado. Según los autores de la invención, esto permite concluir que la presente solución técnica se ajusta al criterio de "Actividad inventiva" (IS).

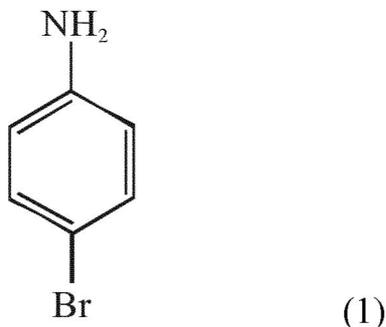
Breve descripción de los dibujos

La invención se explica además mediante la descripción detallada de ejemplos de sus realizaciones, sin referencia a ningún dibujo.

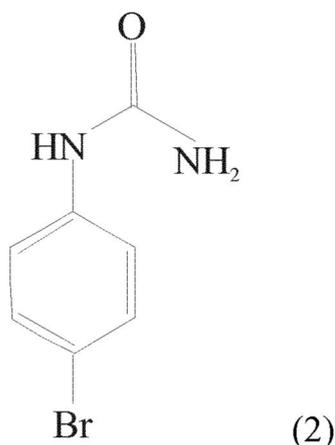
35 Realización preferida

La sustancia de la invención se produce como sigue.

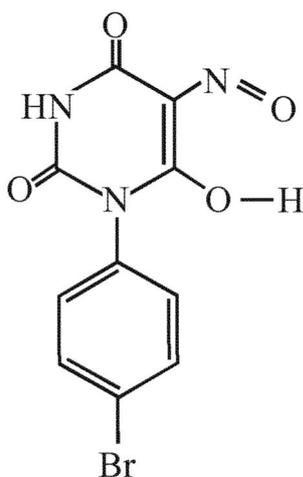
En una primera etapa de síntesis de la preparación, se disuelve 1 mol (172 g) de 4-bromoanilina (1) mientras se calienta a 50°C en 2.5 l de agua con adición de 1.1 mol de ácido clorhídrico al 30% HCL (105 ml).



- 5 Después se vierte una disolución de 1.1 mol (81 g) de cianato de potasio en 400 ml a la disolución mencionada antes mientras se agita. La mezcla obtenida se calienta en un baño de agua durante 15 min y después se enfría, después de lo cual se separa un precipitado de cristales blancos y se lava con agua, después con alcohol acuoso, después de lo cual el precipitado se seca al aire a 50°C hasta que alcanzar peso constante. Se obtienen 175 g del producto (2): N-(4-bromofenil)urea.



- 10 Después, en la segunda etapa de síntesis, se disuelven 2 moles (46 g) de sodio metal en 600 ml de metanol anhidro. Se añade 1 mol (160 g) de éter dietílico malónico a la disolución obtenida y se agita durante 5 minutos. Después se añade 1 mol (215 g) de N-(4-bromofenil)urea (2) y la mezcla resultante se hierve durante 6 h a reflujo mientras se agita. Después, la mezcla se enfría a 25°C y se le añaden 3 l de agua fría, después de lo cual se mantiene durante 10 min, y después la disolución se separa por filtración del residuo. Después una disolución de 75 g (1.1 mol) de nitrito sódico en 400 ml de agua se vierte en la disolución transparente obtenida y se agita. La disolución se enfría a 10°C, después se añaden gota a gota 2.2 mol (132 g) de ácido acético mientras se agita, y después la disolución se mantiene a 25°C durante 1 hora. Después se añaden 400 ml de ácido clorhídrico al 30% a la mezcla obtenida y se agita durante 10 minutos. El precipitado formado se filtra, se lava con disolución de HCl al 1%, después con agua y después se seca. El producto obtenido se recristaliza en 3 l de alcohol. Se obtienen 248 g del producto final (1-(4-bromofenil)-6-hidroxi-5-nitroso-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-2,4-diona) (3) que tiene una temperatura de fusión de 220°C (con descomposición).
- 15
- 20



El agente obtenido se puede aplicar usando cargas, adyuvantes y transportadores farmacológicamente aceptables, tales como polivinilpirrolidona (PVP), metilcelulosa (MC), oxipropilmetilcelulosa (OPMC), carboximetilcelulosa (CMC), carboximetilcelulosa de sodio (Na-CMC) y algunas otras sustancias, almidón de maíz, talco, caolín, bentonitas, aerosil, azúcar de remolacha, lactosa, cloruro sódico, hidrocarbonato de sodio, óxido de aluminio, estearato de aluminio, lecitina, proteínas de suero, fosfatos, glicina, ácido ascórbico, sorbato potásico, mezcla de glicéridos de ácidos grasos vegetales saturados, sales de cinc, dióxido de silicio coloidal, trisilicato de magnesio, lanolina, etc.

La sustancia de la invención se puede administrar por vía oral, parenteral, mediante un pulverizador, de forma local, por el recto, vía nasal, lingual, vaginal o mediante implantes.

Se considera que es mejor administrar la preparación por vía oral, mediante inyecciones o supositorios. El término "parenteral" en este contexto significa lo siguiente: vía subdérmica, intradérmica, intravenosa, intramuscular.

Las preparaciones farmacológicas basadas en la invención se pueden realizar como una preparación estéril para inyecciones, tanto como una disolución acuosa o como una suspensión oleosa. La suspensión se puede crear mediante un método conocido común usado para producir dicha forma de fármacos, usando cualquier detergente y otras sustancias auxiliares (Tween 80) adecuados. La preparación estéril para inyecciones se puede realizar tanto como una disolución o como una suspensión, en donde se puede usar cualquier sustancia parenteralmente aceptable no tóxica, p. ej., el 1.3-butanodiol, como un disolvente o base líquida para dicha disolución o suspensión. Se puede usar manitol, agua, disolución de Ringer y disolución isotónica de cloruro sódico como disolventes aceptables. Se puede crear una disolución oleosa mediante aceites vegetales no volátiles que se usan tradicionalmente para obtener disoluciones y suspensiones oleosas. Cualquier aceite no volátil neutro es adecuado para este fin, así como mono y diglicéridos neutros, y ácidos grasos. Las preparaciones para inyección se pueden crear mediante ácido oleico, glicéridos, aceite de oliva o ricino, en particular sus derivados polioxetilados, puesto que estos constituyen aceites vegetales farmacológicamente aceptables naturales. Las disoluciones y suspensiones oleosas también pueden comprender estabilizantes y detergentes en forma de alcoholes de cadena larga u otras sustancias similares.

Las preparaciones farmacológicas basadas en la sustancia de la invención se pueden administrar por vía oral, en una dosis y forma que sea aceptable para la administración oral, incluyendo cápsulas, píldoras, disoluciones y suspensiones acuosas. Para las píldoras, se usan normalmente lactosa y almidón de maíz como cargas, y también se añaden aditivos de proceso tales como estearato de magnesio. Si la preparación para la administración oral se fabrica como una cápsula, entonces se usan lactosa y almidón de maíz como cargas. Si el fármaco se fabrica como una suspensión acuosa, entonces también se añaden emulsionantes y estabilizantes a la sustancia activa. Si es necesario, también se pueden añadir sustancias que proporcionan a la preparación sabor, olor y color.

Las preparaciones farmacológicas también se pueden fabricar en forma de supositorios para administración rectal o vaginal. Estas formas de fármacos se pueden fabricar mezclando la sustancia de la invención con una carga no irritante adecuada que permanece dura a temperatura ambiente y se vuelve blanda a la temperatura rectal o vaginal. Se pueden usar manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles como dichas cargas.

En preparaciones farmacológicas dirigidas a la aplicación local en la piel, la sustancia activa debe combinarse con una base de pomada adecuada que puede contener la sustancia activa en forma disuelta o como una suspensión. Dicha base de pomada puede incluir aceites minerales, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, una mezcla de polioxietileno y polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Las preparaciones farmacológicas dirigidas al uso externo también se pueden basar en una loción o crema, que contiene la sustancia activa en forma de una disolución o suspensión. En este caso las cargas se pueden caracterizar como un aceite mineral, monoestearato de

sorbitán, polisorbato 60, éteres cetílicos, cera, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico, agua y otros ingredientes adecuados.

La sustancia de la invención también se puede usar para la fabricación de productos médicos para uso externo tales como escayolas, pulverizadores nasales o inhaladores. Dichos productos se pueden fabricar mediante tecnologías existentes usadas en la fabricación de dichos productos. La fase líquida para disolver la sustancia se puede incorporar como disolución isotónica de cloruro sódico (disolución fisiológica); el estabilizante se puede caracterizar como alcohol bencílico o cualquier otra sustancia adecuada; el activador de la absorción se puede caracterizar como fluorocarbonos con el fin de aumentar la biodisponibilidad; la disolución y dispersión se pueden mejorar usando cualesquiera sustancias auxiliares conocidas usadas en la fabricación de dichos productos farmacológicos.

Las preparaciones médicas preparadas basándose en la sustancia de la invención se pueden usar en dosis de 0.01 a 25 mg de la sustancia activa por 1 kg de peso de paciente por 24 horas.

Las formas prolongadas con acción reforzada de la sustancia activa se pueden fabricar basadas en formas liposomales preparadas o complejos con poli(ácido láctico).

La actividad biológica de preparaciones fabricadas basadas en la 1-(4-bromofenil)-6-hidroxi-5-nitroso-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-2,4-diona se ilustra mediante los ejemplos proporcionados a continuación. Lo siguiente se basa en el hecho de que el mecanismo de hepatotoxicidad, inflamación, citólisis y colestasis, son universales y no específicos cualquiera que sea el agente que induce la lesión hepática [Frezza E.E. et al. Sex hormones and trace elements in rat CCl₄-induced cirrhosis and hepatocellular carcinoma. - *European Journal of Cancer Prevention*. 2(4), 357-359, 1993; Lin S.C. et al. Hepatoprotective effects of Taiwan folk medicine: *Ixeris chinensis* (Thunb.) Nak on experimental liver injuries. - *American Journal of Chinese Medicine*. 22(3-4), 243-54, 1994.]. Por lo tanto, el daño a las células hepáticas es similar para la hepatitis causada por diferentes virus (virus de la hepatitis A, E, B, D, C y algunos otros que no están todavía completamente identificados), bacterias del género *Leptospira*, exposición química a instalaciones industriales o como resultado de sustancias venenosas transportadas por agua o alimentos, así como las causadas por efectos del alcohol, algunos medicamentos, p. ej., fármacos citostáticos, así como exposición a la radiación.

Ejemplo 1. Tratamiento de hepatitis tóxica mediante la administración parenteral de la sustancia de la invención. Se indujo hepatitis tóxica aguda en ratas mediante la administración intragástrica de disolución al 50% de tetracloruro de carbono (CCl₄) en aceite de oliva en la cantidad de 1 ml/kg durante 6 días. Después de 10 días, la presencia de hepatitis tóxica se confirmó por imagen morfológica del hígado en todos los animales experimentales. Empezando ese día, durante 10 días las preparaciones se administraron a los animales experimentales a modo de tratamiento, una vez cada 24 horas.

Essentiale se usó como la preparación para comparar, que se administró en ampollas en la cantidad de 1 ml/100 g por vía intravenosa, lentamente, en la vena caudal. La sustancia de la invención también se administró por vía intravenosa en cantidades variables con el fin de refinar el procedimiento de tratamiento. La eficacia del tratamiento se evaluó basándose en el rendimiento clínico, dinámicas de peso corporal, masa hepática relativa, el contenido de bilirrubina, transaminasas, fosfatasa, ceruloplasmina, proteínas totales, lípidos en suero sanguíneo, el contenido de glucógeno, glutatión, grupos SH, ensayos de estrés (prueba de hexenal, prueba de bromosulfaleína) y el patrón histológico del hígado.

Las dinámicas de peso de las ratas se determinaron mediante balanzas VLR-500. El hígado de los animales se pesó usando balanzas electrónicas 1602 MP de "Sartorius". El contenido de glutatión reducido en el hígado y el contenido de grupos sulfhidrilo en el suero sanguíneo se evaluaron por valoración amperométrica de acuerdo con Rubinnaya N.S. (Stalnaya I.D., Garishvili T.G, Modern methods in biochemistry. Moscow, Meditsina, 1977, pág. 66-68), el contenido de glucógeno, por el método de Samodi (Stalnaya I.D., Garishvili T.G, Modern methods in biochemistry. Moscow, Meditsina, 1977, pág. 66-68). La función antitóxica del hígado se evaluó por la duración del sueño por el hexenal (70 mg por 1 kg de peso corporal), y la función excretora del hígado se evaluó mediante la prueba de bromosulfaleína.

La sangre para las pruebas bioquímicas se obtuvo mediante paracentesis de la vena caudal de las ratas.

La actividad de ALT, AST, ALP, ACP, LDH, prueba de timol, el contenido de proteínas y lípidos totales, colesterol, bilirrubina en suero sanguíneo, se evaluaron mediante las series de Bio-Lat-Test fabricados por una empresa checa "Lachema", el contenido de ceruloplasmina se evaluó de acuerdo con Babenko (Laboratory research methods in clinical practice. Libro de referencia, bajo la labor editorial de V.V.Menshikov. Moscow, Russia - Meditsina, 1987, pág. 365). Los animales se sacrificaron por decapitación, se sometieron a autopsia anatomopatológica y estudio histológico. Las ratas experimentales y de referencia se sacrificaron por decapitación. El material se fijó en formaldehído al 10-15% y se insertó en parafina.

Se tiñeron cortes de parafina mediante hematoxilina y eosina. Los cortes fijados congelados se tiñeron para analizar la grasa mediante Sudán III.

El procesamiento estadístico de los resultados de los experimentos se hizo de acuerdo con la distribución T de Student y la distribución F.

5 La eficacia de las preparaciones se evaluó de acuerdo con varios grupos de índices: morfométrico, bioquímico y funcional. Primero de todo se observó el rendimiento clínico de intoxicación. El rendimiento clínico en el grupo de ratas que recibían CCl₄ sin tratamiento se caracterizó por hipodinamia, letargo, pelo desordenado y aspecto desaseado de los animales. Ganaron peso menos bien que las otras ratas. En este grupo, el día 15 del estudio 80% de los animales habían muerto.

10 En los grupos experimentales, al inicio del tratamiento (día 10 del estudio) 40% de los animales habían muerto. Al final del tratamiento (día 20) el porcentaje de muertes en los grupos era como sigue: Essentiale - 50%; la sustancia de la invención en la dosis de 25 mg/kg - 40%. La aplicación de la sustancia de la invención redujo o detuvo casi completamente las manifestaciones de intoxicación. Estos datos se confirmaron por los resultados de análisis objetivos (véase la tabla 1).

La intoxicación por tetracloruro de carbono se encontró que estaba acompañada por reducción de peso corporal y el aumento de la masa hepática relativa. El tratamiento normalizó estas características.

15 Esto también se confirmó por los resultados de estudios histológicos. En dichas condiciones experimentales, la influencia del CCl₄ produjo daño profundo a los hepatocitos en el hígado de ratas experimentales en forma de esteatosis y proteinosis. Gotitas grandes de grasa llenaban completamente el citoplasma de los hepatocitos. La esteatosis macrovesicular tenía forma difusa. Solo un pequeño número de hepatocitos no contenía grasa y tenía citoplasma homogéneo. Se podían ver vacuolas grandes en las preparaciones de parafina en el sitio de inclusiones de grasa. El citoplasma de una parte pequeña de los hepatocitos tenía tinción intensa por eosina. Una parte de las ratas, además de dichos cambios, también ponía de manifiesto focos de necrobiosis; los hepatocitos en estas zonas eran pálidos con bordes celulares indiscernibles, sin núcleos. Los núcleos de la mayoría de los hepatocitos estaban hinchados, aclarados, con hiper Cromatismo de la membrana nuclear.

20 La mayoría de las ratas tratadas no tenían cambios degenerativos del hígado. La constitución trabecular del hígado no presentaba anomalías. Los bordes de los hepatocitos estaban bien definidos. Los núcleos contenían suficiente cromatina. La prueba de grasa usando Sudán III era negativa para la mayoría de las ratas. En 4 casos de ratas tratadas con Essentiale había esteatosis microvesicular focal.

25 Por lo tanto, la sustancia de la invención demostraba su acción hepatoprotectora en el modelo de hepatitis tóxica causada por tetracloruro de carbono. Los índices que ilustran la afección y función del hígado se muestran en las tablas 2 y 3.

Por lo tanto, los estudios llevados a cabo mostraban que la sustancia de la invención tiene acción hepatoprotectora y supera el prototipo Essentiale en una serie de parámetros, en particular, la ausencia de esteatosis microvesicular focal (que se observó en 4 casos de tratamiento con Essentiale), y los datos de índices de marcadores bioquímicos y funcionales.

35 Ejemplo 2. Tratamiento de cirrosis hepática por administración oral de la sustancia de la invención. Se indujo cirrosis hepática en ratas mediante la administración intragástrica de disolución de tetracloruro de carbono al 50% (CCl₄) en aceite de oliva en la cantidad de 1 ml/kg durante 10 días. Después de 20 días se confirmó la presencia de cirrosis hepática por la imagen morfológica del hígado en todos los animales de laboratorio. Empezando a partir de este día, se administró durante 10 días el agente de la invención a los animales de laboratorio como tratamiento, una vez cada 24 horas, en cantidades variables con el fin de refinar el procedimiento de tratamiento óptimo.

40 La eficacia de la preparación de la invención se evaluó en comparación con Essentiale por varios grupos de índices: morfométrico, bioquímico y funcional. Primero de todo se observó el rendimiento clínico de intoxicación. El rendimiento clínico en el grupo de ratas que recibían CCl₄ sin tratamiento se caracterizó por hipodinamia, letargo, pelo desordenado y aspecto desaseado de los animales. Ganaron peso menos bien que las otras ratas. En este grupo, el día 15 del estudio 80% de los animales habían muerto, en el grupo que recibía Essentiale - 60%, en el grupo que recibía el agente de la invención - 40%.

La aplicación del agente de la invención redujo o detuvo casi completamente las manifestaciones de intoxicación. Estos datos se confirmaron por los resultados de análisis objetivos (véase la tabla 4).

50 La intoxicación por tetracloruro de carbono se encontró que estaba acompañada por reducción del peso corporal y el aumento de la masa hepática relativa. El tratamiento con el agente de la invención normalizó estas características.

55 Esto también se confirmó por los resultados de estudios histológicos. En dichas condiciones experimentales, la influencia del CCl₄ produjo daño profundo a los hepatocitos en el hígado de ratas experimentales en forma de esteatosis y proteinosis. Gotitas grandes de grasa llenaban casi completamente el citoplasma de los hepatocitos. La esteatosis macrovesicular tenía forma difusa. Solo un pequeño número de hepatocitos no contenía grasa y tenía citoplasma homogéneo. Se podían ver vacuolas grandes en las preparaciones de parafina en el sitio de inclusiones de grasa. El citoplasma de un número pequeño de hepatocitos tenía tinción intensa por eosina. Una parte de las

ratas, además de dichos cambios, también ponía de manifiesto focos de necrobiosis; los hepatocitos en estas zonas eran pálidos con bordes celulares indiscernibles, sin núcleos. Los núcleos de la mayoría de los hepatocitos estaban hinchados, aclarados, con hipercromatismo de la membrana nuclear.

5 La mayoría de las ratas tratadas con la sustancia de la invención no tenían cambios degenerativos del hígado. La constitución trabecular del hígado no presentaba anomalías. Los bordes de los hepatocitos estaban bien definidos. Los núcleos contenían suficiente cromatina. La prueba de grasa usando Sudán III era negativa para la mayoría de las ratas. En 2 casos de ratas tratadas con Essentiale había esteatosis microvesicular focal.

10 La intoxicación por CCl₄ alteraba todas las funciones del hígado: síntesis de proteínas, de detoxificación, síntesis de lípidos, que estaba acompañada por signos bioquímicos de citólisis. La actividad de transaminasas, fosfatasa en la sangre aumentaba, el contenido de proteínas totales, lípidos, reserva de grupos sulfhidrilo en el suero sanguíneo disminuía, los niveles de bilirrubina y ceruloplasmina aumentaban. La reserva de glucógeno y glutatión reducido, y los niveles de citocromos detoxificantes en el hígado se reducían. Las lesiones hepáticas estaban acompañadas de disminución de su actividad funcional: la duración del sueño por hexenal aumentaba mucho, la excreción de bromosulfaleína se ralentizaba.

15 La aplicación de la sustancia de la invención normalizaba casi completamente y de forma fiable la afección y función del hígado. La evaluación cuantitativa de la eficacia de la preparación en el tratamiento de la hepatitis tóxica se llevó a cabo usando un sistema de clasificación por puntos, teniendo en cuenta los índices de marcadores: la puntuación mayor para cada índice se asignó al grupo con el efecto positivo más pronunciado de la preparación.

20 Por lo tanto, la sustancia ensayada mostraba acción hepatoprotectora que superaba la de la preparación usada para la comparación.

Aplicabilidad industrial

La invención se puede implementar mediante materiales y equipo conocidos. Según la opinión de los autores de la invención, esto permite concluir que la invención se ajusta al criterio de "aplicabilidad industrial" (IA).

Tabla 1.

25 Peso corporal y masa hepática relativa de animales experimentales después de tratamiento de intoxicación por CCl₄ con dosis variables M ± m.

Indicadores	Intacto	intoxicación por CCl ₄		
		Sin tratamiento	Essentiale	La sustancia de la invención 25 mg/kg
Peso corporal, g	179 ± 7	165 ± 10*	176 ± 8	174 ± 8
Masa hepática relativa, g/kg	29.70 ± 1.46	41.30 ± 1.17*	32.78 ± 1.91	27.87 ± 1.03

*- diferencias estadísticamente significativas respecto a los animales intactos con p <0.05

Tabla 2.

30 Índices de marcadores bioquímicos y funcionales de la afección hepática de los animales experimentales después de tratamiento de intoxicación por CCl₄ con la sustancia de la invención en dosis variables M ± m.

Indicadores	Intacto	intoxicación por CCl ₄		
		Sin tratamiento	Essentiale	La sustancia de la invención, 25 mg/kg
Alanina aminotransferasa, suero, μmol/(s·l)	0.59 ± 0.04	1.56 ± 0.11*	0.93 ± 0.08*	0.85 ± 0.08
Aspartato aminotransferasa, suero, μmol/(s·l)	0.35 ± 0.04	0.80 ± 0.07*	0.42 ± 0.06	0.32 ± 0.04
Fosfatasa alcalina, suero, nmol/(s·l)	852 ± 30.7	1677 ± 168.8*	1070 ± 98.3*	811 ± 26.3
Sueño por hexenal, min	31.0 ± 2.0	59.0 ± 4.0*	36.0 ± 2.5	31.0 ± 2.0

*- diferencias estadísticamente significativas respecto a los animales intactos con p <0.05

Tabla 3.

Índices secundarios bioquímicos y funcionales de la afección hepática de los animales experimentales después de tratamiento de intoxicación por CCl₄ con la sustancia de la invención en dosis variables M ± m.

Indicadores	Intacto	intoxicación por CCl ₄		
		Sin tratamiento	Essentiale	La sustancia de la invención, 25 mg/kg
Proteínas totales, suero, g/l	64 ± 2	31 ± 4*	63 ± 5	69 ± 6
Lípidos totales, suero, g/l	3.5 ± 0.3	2.5 ± 0.3*	3.6 ± 0.09	3.4 ± 0.09
ACP, µkat/l	0.76 ± 0.11	2.27 ± 0.19*	0.71 ± 0.12	0.75 ± 0.10
LDH, mmol/h/l	4.94 ± 0.32	8.48 ± 0.36*	4.73 ± 0.30	5.49 ± 0.45
Prueba de timol, unidades de turbidez	1.46 ± 0.03	5.99 ± 0.35*	1.40 ± 0.11	1.18 ± 0.17
Grupos SH, suero, mg%	1535 ± 64	263 ± 39*	1602 ± 40	1554 ± 72
Glutación reducido, hígado, mg%	165 ± 6	60 ± 10*	171 ± 12	164 ± 10
Glucógeno, hígado, mg%	2482 ± 99	739 ± 78*	2430 ± 106	2691 ± 191
Concentración de bromosulfaleína en el minuto 10 después de administración del suero, extinción	13.7 ± 0.9	40.4 ± 4.2*	13.7 ± 0.5	13.5 ± 1.6
Ceruloplasmina, suero, mg/l	417 ± 12	989 ± 81*	453 ± 21	477 ± 44
Colesterol, suero, mmol/l	1.77 ± 0.24	1.32 ± 0.20	1.79 ± 0.35	1.70 ± 0.19
Bilirrubina total, suero, mmol/l	3.2 ± 0.4	7.4 ± 0.3*	3.3 ± 0.2	3.8 ± 0.5

*- diferencias estadísticamente significativas respecto a los animales intactos con p <0.05

Tabla 4.

Peso corporal y masa hepática relativa de animales experimentales después de tratamiento de intoxicación por CCl₄ con la sustancia de la invención en dosis variables M ± m.

Indicadores	Intacto	intoxicación por CCl ₄		
		Sin tratamiento	Essentiale, 100 mg/kg	La sustancia de la invención, 90 mg/kg
Peso corporal, g	179 ± 7	165 ± 10*	176 ± 8	174 ± 7
Masa hepática relativa, mg/100 g	29.70 ± 1.46	41.30 ± 1.17*	32.78 ± 1.91	27.87 ± 1.03*

5 *- diferencias estadísticamente significativas respecto a los animales intactos con p <0.05

Tabla 5

Índices de marcadores bioquímicos y funcionales de afección hepática de los animales experimentales después de tratamiento de intoxicación por CCl₄ usando la sustancia de la invención en dosis variables M ± m.

Indicadores	Intacto	intoxicación por CCl ₄		
		Sin tratamiento	Essentiale, 100 mg/kg	La sustancia de la invención, 90 mg/kg
Alanina aminotransferasa, suero, µmol/(s•l)	0.59 ± 0.04	1.56 ± 0.11*	0.93 ± 0.08*	0.85 ± 0.08
Aspartato aminotransferasa, suero, µmol/(s•l)	0.35 ± 0.04	0.80 ± 0.07*	0.42 ± 0.06	0.32 ± 0.04
Fosfatasa alcalina, suero, nmol/(s•l)	852 ± 30.7	1677 ± 168.8*	1070 ± 98.3*	811 ± 26.3
Sueño por hexenal, min	31.0 ± 2.0	59.0 ± 4.0*	36.0 ± 2.5	31.0 ± 2.0

*- diferencias estadísticamente significativas respecto a los animales intactos con p <0.05

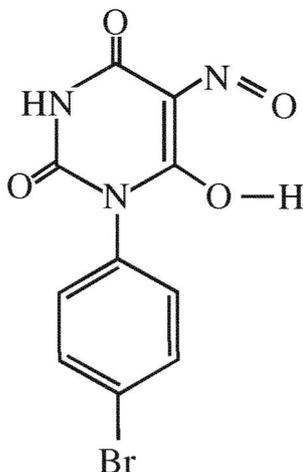
10 Tabla 6.

Evaluación cuantitativa de la eficacia de diferentes métodos de tratamiento durante la lesión hepática tóxica causada por CCl₄.

Nº de ítem	Grupos experimentales	Indicadores					Puntos totales
		ALT	AST	ALP	Coefficiente de peso	Sueño por hexenal	
1	CCl ₄ + la sustancia de la invención, 180 mg/kg	7	7	11	10	10	45
2	CCl ₄ + Essentiale, 100 mg/kg	7	9	5	8	8	37
3	CCl ₄ (sin tratamiento)	4	2	1	1	5	13
4	Intacto	11	11	9	6	10	47

REIVINDICACIONES

1. Un producto: 1-(4-bromofenil)-6-hidroxi-5-nitroso-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-2,4-diona, de la siguiente fórmula



que tiene una temperatura de fusión de 220°C.

- 5 2. El producto de la reivindicación 1, para usar en el tratamiento de lesiones hepáticas causadas por agentes químicos o biológicos.
3. El producto para usar según la reivindicación 2, en donde el producto se administra por vía oral, parenteral, mediante un pulverizador, de forma local, por el recto, vía nasal, lingual, vaginal o mediante implantes.
- 10 4. El producto para usar según la reivindicación 2 o 3, para usar en el tratamiento de cirrosis hepática por administración oral.
5. El producto para usar según la reivindicación 2 o 3, para usar en el tratamiento de hepatitis tóxica por administración parenteral.
6. Un método para preparar el producto como se define en la reivindicación 1, donde comprende las etapas de:
- a) disolver 2 moles (46 g) de sodio metal en 600 ml de metanol anhidro,
- 15 b) añadir 1 mol (160 g) de éter dietílico malónico a la disolución obtenida y agitar la disolución durante 5 minutos,
- c) añadir 1 mol (215 g) de N-(4-bromofenil)urea a la disolución y hervir la mezcla resultante durante 6 h a reflujo mientras se agita,
- d) enfriar la mezcla a 25°C y añadirle 3 l de agua fría, después de lo cual la mezcla se mantiene durante 10 min, y después separar la disolución por filtración del residuo,
- 20 e) verter una disolución de 75 g (1.1 mol) de nitrito sódico en 400 ml de agua en la disolución transparente obtenida y agitar la misma,
- f) enfriar la disolución a 10°C, después añadir gota a gota 2.2 mol (132 g) de ácido acético mientras se agita, y después mantener la disolución a 25°C durante 1 hora,
- g) añadir 400 ml de ácido clorhídrico al 30% a la mezcla obtenida y agitar la misma durante 10 minutos,
- 25 h) separar el precipitado formado, lavar el precipitado con disolución de HCl al 1%, después con agua, secar el precipitado y recristalizarlo en 3 l de alcohol.