

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 766 758**

51 Int. Cl.:

C07D 215/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2014 PCT/US2014/030532**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14145723**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2014 E 14762230 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2019 EP 2970128**

54 Título: **Sales de adición de base de nitroxolina y usos de las mismas**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361790059 P

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

15.06.2020

73 Titular/es:

**JIANGSU YAHONG MEDITECH CO., LTD.
(100.0%)
Suite 1009, Phase II Building D, China Medical
City, No.1 Yaocheng Avenue
Taizhou Jiangsu, CN**

72 Inventor/es:

PAN, KE

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 766 758 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 base de nitroxolina y usos de las mismas

5 SECTOR DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a nuevas sales de adición de base de nitroxolina, las cuales tienen una solubilidad y estabilidad mejoradas, en soluciones acuosas, en comparación con la nitroxolina u otras sales de nitroxolina. La presente invención, se refiere, así mismo, a un procedimiento para preparar las sales de adición de base de nitroxolina y a composiciones farmacéuticas las cuales comprenden las sales de adición de base de nitroxolina. La invención se refiere, así mismos, a las composiciones anteriormente mencionadas, para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades, de trastornos y de afecciones.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La nitroxolina es un agente antimicrobiano el cual se ha venido comercializando en el mercado, desde hace mucho tiempo, para el tratamiento de infecciones del tracto urinario. Se ha descubierto, recientemente, el hecho de que, la nitroxolina es también activa, así mismo, en la inhibición de la angiogénesis [1] y en la inhibición del crecimiento y de la invasión del cáncer [2, 3].

El documento de patente estadounidense US 2011 / 0 301 163 A1 se refiere al uso de compuestos de quinolina como inhibidores de la angiogénesis, a la metionina aminopeptidasa humana y al SIRT1, y a procedimientos para tratar desórdenes o trastornos. La nitroxolina, se descubrió, como un éxito común de tres exámenes independientes de fármacos antiangiogénicos y anticancerígenos. De una forma específica, se descubrió el hecho de que la nitroxolina inhibe la actividad de la MetAP-2, la actividad de la SirT1 y la proliferación de células endoteliales y de las del cáncer de mama. De una forma adicional, se encontró el hecho de que la nitroxolina induce la senescencia prematura en las células endoteliales y que ésta inhibe la angiogénesis, *in vitro* e *in vivo*. En concordancia con el documento de patente estadounidense US 2011 / 0 301 163 A1, las sales de quinolina la cuales se describen en ésta, de una forma general, pueden proporcionarse en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, el documento de patente estadounidense US 2011 / 0 301 163 A1 en cuestión, no proporciona ninguna enseñanza específica sobre ningunas de las sales de nitroxolina en particular.

La nitroxolina se administra por vía oral a los pacientes. Estudios farmacocinéticos efectuados en humanos, indicaron que la nitroxolina se puede absorber rápidamente en la sangre para su circulación [4]. La nitroxolina tiene una vida media muy corta ($t_{1/2}$) en humanos, con la $t_{1/2} = 2,63$ horas. Así, por lo tanto, la nitroxolina, se metaboliza y excreta rápidamente, principalmente a través de la orina. Por lo tanto, para mantener una exposición continua a los fármacos, los productos consistentes en los fármacos a base de nitroxolina, se recetan, generalmente, tres veces al día (TID) o cuatro veces al día (QID).

La nitroxolina también presenta una baja solubilidad en agua. Así, por lo tanto, de una forma típica, ésta se prepara en formulaciones de liberación inmediata, lo cual permite la liberación de la nitroxolina en líquidos gástricos, en el estómago, y la subsiguiente absorción en el intestino. Si bien se ha reportado, por parte de Yatsenko et al. [5], la estructura cristalina de una sal de adición de clorhidrato (HCl) de nitroxolina, no se han dado a conocer datos de solubilidad de ningunas sales de nitroxolina, incluida la sal de HCl de nitroxolina. Debido a la baja solubilidad en agua de la nitroxolina, hasta el momento actual, no se han reportado ni desarrollado formulaciones de nitroxolina de liberación controlada, ni tampoco formulaciones de nitroxolina inyectables, para el uso humano.

Nuevas sales de nitroxolina provistas de una solubilidad en agua mejorada, proporcionarían el desarrollo de formulaciones optimizadas de fármacos de nitroxolina, lo cual permitiría el que se pudiera administrar, a los pacientes, tales tipos de formulaciones de fármacos de nitroxolina con una menor frecuencia, mejorando así, de este modo, el cumplimiento de la administración del fármaco. El cumplimiento de la dosificación del fármaco, es fundamental, para garantizar la exposición y la biodisponibilidad adecuadas del fármaco en los pacientes y así, por lo tanto, su eficacia en el tratamiento de enfermedades. Un nivel del fármaco más estable en el torrente sanguíneo, proporcionado mediante una formulación optimizada también puede reducir, así mismo, los efectos adversos. Una solubilidad mejorada en agua, permitiría de una forma adicional, la preparación de sales de nitroxolina, en composiciones líquidas.

Nuevas sales de nitroxolina con una estabilidad mejorada, también proporcionarían el desarrollo de formulaciones de fármacos optimizadas y mejorarían el proceso de fabricación. La nitroxolina sublima a altas temperaturas [6], lo cual provoca diversos problemas en el proceso de fabricación. Así, por ejemplo, la nitroxolina sublimada, provoca una contaminación, durante el proceso de secado, al acumularse en las superficies del lugar de fabricación y del equipo. Por lo tanto, cuando por ejemplo, la nitroxolina se fabrica en tabletas, ésta puede penetrar las películas de recubrimiento y así, de este modo, contaminar los recipientes.

65 Correspondientemente en concordancia, existe una necesidad, en el arte especializado de la técnica, en cuento al

hecho de poder disponer de nuevas sales de nitroxolina, las cuales tengan una solubilidad en agua mejorada y una estabilidad mejorada en comparación con la nitroxolina.

RESUMEN DE LA INVENCION

5 La presente invención satisface estas necesidades proporcionando nuevas sales de adición de base de nitroxolina, tal como se define en las reivindicaciones anexas. Las sales de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención tienen una solubilidad mejorada en agua y en otros medios acuosos, y también, una estabilidad mejorada en comparación con la nitroxolina, y así, por lo tanto, éstas pueden formularse en forma de composiciones farmacéuticas mejoradas.

10 En un aspecto general, la presente invención proporciona sales de adición de base de nitroxolina, tal como éstas se definen en las reivindicaciones. Las sales de adición de base son la sal de amina de nitroxolina colina y las sales de amina de nitroxolina, tal como éstas se definen en las reivindicaciones.

15 En otro aspecto general, la presente invención, proporciona un procedimiento para preparar una sal de nitroxolina de adición de base como se define por las reivindicaciones, el procedimiento comprende mezclar nitroxolina y una base en un disolvente para obtener la sal de adición de base de nitroxolina y recuperar la adición de base sal de nitroxolina del solvente.

20 En todavía otro aspecto general, la presente invención, proporciona un cristal de sal de colina de nitroxolina, en el cual, el cristal presenta picos en los ángulos de difracción (2θ) con una exactitud de $\pm 0,2\theta$: 9,96, 12,12, 17,72 y 20,08 en su modelo patrón de difracción de rayos X, de la materia en polvo.

25 Y en todavía otro aspecto general, la presente invención, se refiere a composiciones farmacéuticas las cuales comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de adición de base de nitroxolina, tal ésta se definen mediante las reivindicaciones y un portador o soporte farmacéuticamente aceptable.

30 Otros aspectos de la presente invención, se refieren a las composiciones farmacéuticas anteriormente mencionadas, arriba, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o afección, en un sujeto que lo necesite, el cual comprende la administración, al sujeto en cuestión, de una composición la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de adición de base de nitroxolina, en concordancia con la invención. Las enfermedades, trastornos y afecciones a tratar o a prevenir se seleccionan de entre el grupo que consiste en una infección del tracto urinario, una enfermedad asociada con la angiogénesis, tumores y cánceres.

35 Otros aspectos, características y ventajas de la invención, resultarán evidentes a partir de la descripción la cual se facilita a continuación y que incluye la descripción detallada de la invención y sus formas de presentación preferidas, y las reivindicaciones anexas.

40 DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LAS DIVERSAS VISTAS DE LOS DIBUJOS

El resumen anteriormente facilitado, arriba, así como la descripción detallada de la invención, la cual se facilita a continuación, se entenderán mejor cuando éstas se lean conjuntamente con los dibujos anexas. Con el propósito de ilustrar la invención, se muestran, en los dibujos, formas de presentación la cuales corresponden a las actualmente preferidas. Sin embargo, no obstante, se entenderá el hecho de que, la invención, no se limita a las disposiciones e instrumentos precisos mostrados. En los dibujos:

La Figura 1, proporciona el espectro de $^1\text{H-NMR}$ de la sal de colina de nitroxolina;
 La Figura 2, proporciona el espectro de masas de la sal de colina de nitroxolina;
 50 La Figura 3, proporciona la calorimetría diferencial de barrido (DSC – de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Differential Scanning Calorimetry) de la sal de colina de nitroxolina;
 La Figura 4 proporciona la difracción de rayos X de la materia en polvo (pXRD – de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a powder X-Ray-Diffraction) de la sal de colina de nitroxolina;
 La Figura 5, proporciona el espectro de $^1\text{H-NMR}$ (resonancia magnética nuclear del protón – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Proton nuclear magnetic resonance] -), de la sal de colina de nitroxolina
 55 recristalizada;
 La Figura 6, proporciona el espectro de masa de sal de colina de nitroxolina recristalizada;
 La Figura 7, proporciona la DSC de sal de colina de nitroxolina recristalizada; y
 La Figura 8, proporciona el pXRD de la sal de colina de nitroxolina recristalizada.

60 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

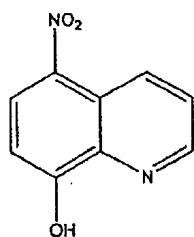
En los antecedentes y a través de la totalidad de la presente especificación, se citan o describen diversas publicaciones, artículos y patentes. La discusión de los documentos, actos, materiales, dispositivos, artículos o similares que se han incluido en la presente especificación, tienen el propósito de proporcionar un contexto para la

presente invención. Tal discusión, no es una aceptación de que alguna o la totalidad de estas cuestiones, formen parte de la técnica anterior, con respecto a cualquier invención revelada o reivindicada.

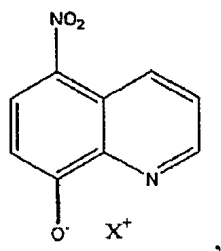
5 A menos de que se defina de otro modo, la totalidad de los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que el que se entiende comúnmente por parte de una persona experta en el arte especializado de la técnica a la cual pertenece la presente invención. De una forma distinta, determinados términos utilizados en este documento tienen los significados establecidos en la especificación. Deberá tomarse debida nota, en cuanto al hecho de que, tal como éstas se utilizan en este documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" o "la", incluyen a la referencia en plural a menos de que, el contexto indique claramente lo contrario.

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención son sales de adición de base de nitroxolina, tal como éstas se define en las reivindicaciones.

15 A menos de que se indique de otro modo, el término "nitroxolina" se refiere a un compuesto el cual tiene la siguiente estructura química:



20 Una "sal de adición de base de nitroxolina", se refiere a un compuesto el cual tiene la siguiente estructura química:



25 en donde X⁺, representa un catión tal como éste se define mediante las reivindicaciones, o bien, el catión de amonio cuaternario de colina.

Tal como se usa en el presente documento, el término "composición farmacéutica", pretende abarcar a un producto o una composición, la cual comprende un ingrediente farmacéutico activo en una cantidad terapéuticamente efectiva y un portador o soporte farmacéuticamente aceptable.

30 Tal como se usa en el presente documento, el término "cantidad terapéuticamente efectiva", cuando éste se refiere a una cantidad de un ingrediente farmacéutico activo, significa la cantidad del ingrediente farmacéutico activo que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema de tejido, animal o humano, la cual se está buscando por parte de un investigador, de un veterinario, de un médico u otro especialista clínico, respuesta ésta la cual incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad, trastorno o afección la cual se está tratando. En determinadas formas de presentación, una "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad que tiene un efecto profiláctico, es decir, la cual previene o retarda la aparición de una enfermedad, trastorno o afección.

40 Se conocen procedimientos, en el arte especializado de la técnica, para determinar la cantidad terapéuticamente efectiva de un ingrediente farmacéuticamente activo en concordancia con las formas de presentación de la presente invención. De una forma adicional y como también entenderán las personas expertas en el arte especializado de la técnica, los niveles de dosis específicos para cualquier sujeto en particular, pueden variar, en dependencia de una variedad de factores, los cuales incluyen a la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la ruta de administración, la tasa de excreción, cualquier agente terapéutico adicional administrado en combinación con el mismo y la gravedad de la enfermedad, trastorno o afección a tratar.

45 En un aspecto general, la presente invención, se refiere a una sal de adición de base de nitroxolina, tal como ésta se define por las reivindicaciones. Una sal de adición de base de nitroxolina se prepara combinando nitroxolina y una base.

En concordancia con una forma de presentación de la presente invención, la base, es hidróxido de colina.

En una forma adicional de presentación de la presente invención, la base, es una base de alquilamina, seleccionada entre la dietilamina, el 2-dietilaminoetanol, la N, N-dietiletanolamina y la diolamina.

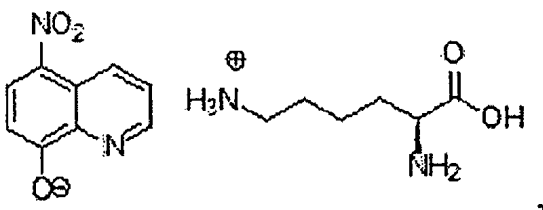
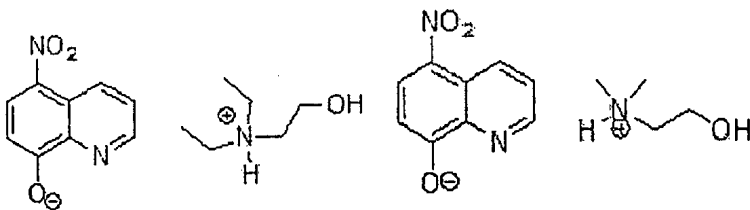
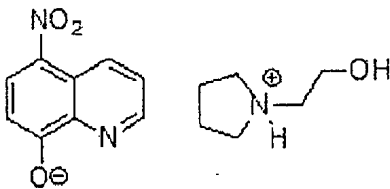
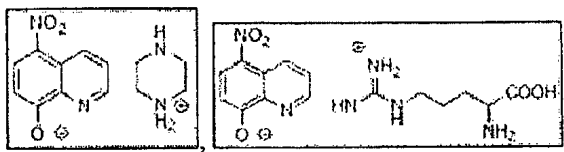
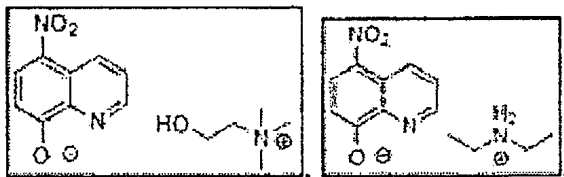
5 En concordancia con formas adicionales de presentación de la presente invención, una base de amina la cual se puede usar para formar sales de adición de base de nitroxolina es una amina heterocíclica, seleccionada de entre el grupo que consiste en la piperazina y la 1-(2-hidroxietil)pirrolidina.

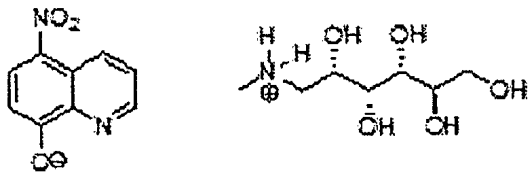
10 En concordancia con otras formas de presentación de la presente invención, la base, también puede ser, así mismo, un aminoácido básico, seleccionado de entre el grupo de aminoácidos básicos que consiste en la arginina y la lisina. En una forma preferida de presentación, el aminoácido básico, es la lisina.

En concordancia con otra forma de presentación de la presente invención, la base, es la N-metilglucamina.

15 En una forma de presentación particularmente preferida de la presente invención, una sal de nitroxolina amina, es la sal de nitroxolina-dietilamina, la sal de nitroxolina piperazina, la sal de nitroxolina L-arginina, la sal de nitroxolina 1-(2-hidroxietil)pirrolidina, la sal de nitroxolina 2-dietilaminoetanol, la sal de nitroxolina N, N-dimetiletanolamina, la sal de nitroxolina-lisina, la sal de nitroxolina N-metilglucamina o la sal de nitroxolina-diolamina.

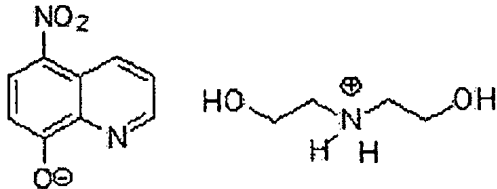
20 En concordancia con otra forma preferida de presentación de la presente invención, una sal de adición de base de nitroxolina, tiene una estructura química seleccionada de entre:





Y

5



En otro aspecto general, la presente invención, proporciona una sal de adición de base de nitroxolina, tal como se define en las reivindicaciones, en donde, la sal, se obtiene mezclando nitroxolina y una base.

10

En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, una sal de adición de base de nitroxolina, tiene una solubilidad mejorada y una estabilidad mejorada en condiciones fisiológicas, tal como, por ejemplo, a un pH que varía dentro de unos márgenes que van de aprox. 4,5 a aprox. 8, en comparación con la nitroxolina. Los términos "solubilidad" y "soluble" se usan indistintamente y éstos se refieren a la solubilidad de un compuesto de la invención en condiciones fisiológicas en un medio acuoso que tenga un valor un pH comprendido dentro de unos márgenes situados entre 4,5 y 8. Tal como se usa en el presente documento, "medio acuoso", se refiere a agua y a mezclas de agua y otros componentes, siempre que la mezcla comprenda por lo menos un porcentaje del 50 %, en peso, de una forma preferible, por lo menos un porcentaje del 70 %, en peso, y de la forma mayormente preferible, por lo menos un porcentaje del 90 %, en peso, de agua. En una forma de presentación, el término "estabilidad", cuando éste se usa con referencia a una sal de adición de base de nitroxolina, se refiere a una propensión reducida a sublimar. Las sales de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención, también tienen una excreción incrementada del fármaco, en la orina de un sujeto.

15

20

25

30

35

40

Cualquier procedimiento conocido en el arte especializado de la técnica, en vistas de la presente descripción, puede usarse para determinar la solubilidad de las sales de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención. Así, por ejemplo, la solubilidad, se puede determinar mediante el procedimiento de solubilidad en equilibrio, el cual implica la adición de una masa conocida de un compuesto, a un volumen conocido de un medio acuoso, a un pH definido. La solución resultante, se agita (por ejemplo, mediante batido) hasta que se obtiene un estado de equilibrio. La solubilidad, se puede determinar cualitativamente o cuantitativamente, utilizando procedimientos analíticos conocidos (por ejemplo, mediante espectrofotometría). Otros procedimientos para determinar la solubilidad de un compuesto químico, se describen en *Physicochemical Properties of Prostaglandin F₂* (Tromethamine Salt): Solubility Behavior, Surface Properties, and Ionization Constants: *Journal of Pharmaceutical Sciences*, - Propiedades fisicoquímicas de la prostaglandina F₂α (sal de trometamina): comportamiento de solubilidad, propiedades de superficie y constantes de ionización: *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1973, 62: páginas 1680 - 5; 'General treatment of pH solubility profiles of weak acids and bases. II. Evaluation of thermodynamic parameters from the temperature dependence of solubility profiles applied to a zwitterionic compound: *International Journal of Pharmaceutics*, - Tratamiento general de perfiles de solubilidad de pH de ácidos y bases débiles. II Evaluación de parámetros termodinámicos a partir de la dependencia de la temperatura de los perfiles de solubilidad aplicados a un compuesto de ion híbrido: *International Journal of Pharmaceutics*, 1985, 25: páginas 135 - 145; y Patente estadounidense N ° 7 723 119 .

45

50

En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, una sal de adición de base de nitroxolina, la cual tenga una solubilidad mejorada, tiene una solubilidad de por lo menos 0,1 mg / ml, de una forma más preferible, de 0,1 - 1,0 mg / ml, de una forma más preferible, de 1 - 10 mg / ml, de una forma más preferible, de 30 - 100 mg / ml, de una forma más preferible > 100 mg / ml, e incluso de una forma más preferible > 1000 mg / ml en un medio acuoso el cual tenga un valor pH comprendido entre 4,5 y 8, tal como el correspondiente a un valor pH de 4,5, de 5,0, de 5,5, de 6,0, de 6,5, de 7,0, de 7,5 o de 8,0. En concordancia con una forma de presentación preferida, una sal de adición de base de nitroxolina que tiene una solubilidad mejorada tiene una solubilidad de por menos 0,1 mg / ml, de una forma más preferible, de 0,1 - 1,0 mg / ml, de una forma más preferible de 1 - 10 mg / ml, de una forma más preferible de 30 - 100 mg / ml, de una forma incluso más preferible > 100 mg / ml, e incluso de una forma más preferible > 1000 mg / ml, en agua.

En otro aspecto general, la presente invención, proporciona procedimientos para preparar una sal de adición de

base de nitroxolina, tal como se define en las rei. Según las formas de presentación de la presente invención, un procedimiento para preparar una sal de adición de base de nitroxolina, comprende el proceder a mezclar nitroxolina y una base, en un disolvente, para obtener la sal de adición de base, y recuperar la sal de adición de base de nitroxolina, del disolvente.

5 Las siguientes bases, se pueden usar en el procedimiento de preparación de una sal de adición de base de nitroxolina, en concordancia con la invención: hidróxido de colina, dietilamina, piperazina, L-arginina, 1-(2-hidroxietyl)-pirrolidina, 2-(dietilamino)etanol, N, N-dimetiletanolamina, lisina, N-metilglucamina y diolamina.

10 En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, se procede a mezclar la nitroxolina y una base, en un disolvente. El disolvente es, de una forma preferible, un disolvente orgánico o una mezcla de disolventes orgánicos. Los ejemplos de disolventes orgánicos adecuados para usarse en un procedimiento de la presente invención incluyen, pero no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a los alcoholes, tales como el metanol, el etanol y el isopropanol; las cetonas, tales como la acetona y la metilisobutilcetona; los disolventes halogenados, tales como el diclorometano; los nitrilos, tales como el isobutironitrilo y el acetonitrilo; los disolventes aromáticos, tales como el tolueno y la piridina; el tetrahidrofurano y sus mezclas. En concordancia con una forma preferida de presentación de la presente invención, un disolvente comprende, uno o más disolventes seleccionados de entre el grupo que consiste en el tetrahidrofurano, el acetonitrilo, el metanol y el etanol.

20 En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, se usan de aprox. 1,0 a aprox. 2,0 equivalentes molares de base, con respecto a la nitroxolina, en un procedimiento para preparar una sal de nitroxolina por adición de base. Se pueden usar, por ejemplo, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9 ó 2,0 equivalentes molares de base con relación a la nitroxolina.

25 La nitroxolina y la base, se pueden mezclar en un disolvente, usando cualquier procedimiento el cual sea conocido en el arte especializado de la técnica, en vistas de la presente descripción. La nitroxolina y la base, se pueden añadir al disolvente o la mezcla de solventes en cualquier orden. Así, por ejemplo, la nitroxolina, se puede añadir al disolvente, en primer lugar, seguido por la adición de la base, o bien, la base se puede añadir al disolvente, en primer lugar, seguido por la adición de la nitroxolina, o bien, la base y la nitroxolina, se pueden añadir simultáneamente al disolvente. La mezcla de nitroxolina, la base y el disolvente, se pueden agitar de una forma continua, durante el transcurso de la reacción, tal como, por ejemplo, usando una varilla de agitación, o bien, la mezcla, se puede calentar a reflujo.

35 Se procede a hacer reaccionar la nitroxolina y la base, hasta que se complete la reacción, tal como durante unas pocas horas o durante el transcurso de toda la noche. El progreso de la reacción, puede controlarse mediante cualquier procedimiento el cual sea conocido en el arte especializado de la técnica, en vistas a la presente descripción, tal como mediante cromatografía en capa fina (TLC – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes thin layer chromatography] -). Las reacciones, se llevan a cabo, de una forma típica, a la temperatura ambiente o la temperatura del recinto, es decir, a una temperatura de 18 - 25 °, en una atmósfera de nitrógeno. Sin embargo, no obstante, la temperatura puede variar en dependencia, por ejemplo, de la base utilizada en particular y de la cantidad de nitroxolina y de base, y se encuentra al alcance de la persona experta en el arte especializado de técnica, el determinar el tiempo de reacción apropiado y controlar cuándo la reacción se completado.

45 En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, una sal de adición de base de nitroxolina puede recuperarse, del disolvente, mediante cualquier procedimiento el cual sea conocido en el arte especializado de la técnica, en vistas a la presente descripción. Así, por ejemplo, la sal de adición de base, puede recuperarse eliminando el (los) disolvente(s) al vacío, mediante procedimiento de filtrado o por cristalización. En concordancia con una forma preferida de presentación, la sal de adición de base de nitroxolina se recupera por cristalización del disolvente, a una temperatura apropiada.

50 Las sales de adición de base, pueden analizarse mediante cualquier procedimiento analítico el cual sea conocido en el arte especializado de la técnica, en vistas a la presente revelación, los cuales incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a la determinación del punto de fusión, la ¹H-NMR, la espectrometría de masas (MS) y la espectrometría de masas por cromatografía líquida (LCMS), y calorimetría diferencial de barrido (DSC).

55 La presente invención también proporciona, así mismo, una sal de colina de nitroxolina, la cual tiene una nueva forma de cristal. En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, el cristal, presenta picos en los ángulos de difracción (2θ), con una exactitud de ± 0,2θ: 9,96, 12,12, 17,72 y 20,08 en su modelo patrón de difracción de rayos X de la materia en polvo. Véanse las Figuras 4 y 8. Otros picos característicos de una sal de colina de nitroxolina de la invención, en los ángulos de difracción (2θ), con una exactitud de + 0,2θ incluyen: 7,64, 13,06, 16,6, 18,5, 22,24, 23,06, 23,62, 25,52 y 27,06

60 En todavía otro aspecto general, la presente invención, se refiere a una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención y uno o más portadores o soportes farmacéuticamente aceptables, y a procedimientos para

preparar la composición farmacéutica. Una composición farmacéutica, puede comprender cualquier sal de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención y descrita aquí.

5 Una composición farmacéutica en concordancia con la invención, puede formularse para cualquier forma de administración, la cual incluye a las formas inyectable (intravenosa), vía la mucosa, oral (preparaciones sólidas y líquidas), por inhalación, ocular, rectal, tópica o parenteral (infusión, inyección, implantación, subcutánea, administración intravenosa, intraarterial, intramuscular). Los ejemplos de preparaciones sólidas para la administración oral incluyen, pero no de una forma limitativa en cuanto a éstas, a las materias en polvo, las cápsulas, los comprimidos o pastillas, las cápsulas blandas de gel y a las tabletas; los ejemplos de preparaciones líquidas para la administración oral o vía la mucosa incluyen, pero no de una forma limitativa en cuanto a éstas, a las suspensiones, las emulsiones, los elixires y las soluciones; y los ejemplos de las formulaciones tópicas incluyen, pero no de una forma limitativa en cuanto a éstas, a las emulsiones, los geles, las pomadas, las cremas, los parches, las pastas, las espumas, las lociones, las gotas o los sueros. Los ejemplos de preparaciones para la administración parenteral, incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a las soluciones inyectables, los productos secos que se pueden disolver o suspender en un portador o soporte farmacéuticamente aceptable para inyección, las suspensiones inyectables y las emulsiones inyectables. Los ejemplos de otras composiciones adecuadas, incluyen a la gotas para los ojos y otras preparaciones oftálmicas; los aerosoles, tales como los aerosoles nasales o inhaladores; las formas de dosificación líquidas adecuadas para administración parenteral; los supositorios; y las pastillas.

20 En una forma preferida de presentación, una composición farmacéutica, se formula, para su administración mediante inyección.

25 Las composiciones farmacéuticas en concordancia con la invención, comprenden, de una forma adicional, un portador o soporte farmacéuticamente aceptable, tal como los ampliamente empleados en el arte especializado de la técnica correspondiente a la fabricación de fármacos. Los portadores o soportes farmacéuticamente aceptables, no son tóxicos y éstos pueden incluir uno o más agentes aglomerantes o aglutinantes, tales como la hidroxipropilmetilcelulosa; agentes solubilizantes, tales como la povidona y el cloruro de cetilpiridinio; agentes acidificantes, tales como el ácido algínico; agentes formadores de poros, tales como la sacarosa; lubricantes, tales como el fumarato de estearilo; deslizantes, tales como el dióxido de silicio coloidal; aglutinantes o aglomerados, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, diluyentes, cargas (de relleno), agentes de granulación, adhesivos, desintegrantes, antiadherentes, deslizantes, agentes humectantes, agentes gelificantes, tampones, agentes quelantes, conservantes, colorantes, saborizantes y edulcorantes y similares. Los portadores farmacéuticamente aceptables, pueden tener una amplia variedad de formas, dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración, y la cantidad y el tipo variarán, según la necesidad. Una persona habitualmente experta en el arte especializado de la técnica, podría determinar fácilmente los portadores o soportes apropiados ser añadidos, a una composición farmacéutica de la invención, en vistas de la presente descripción.

40 En determinadas formas de presentación, una composición farmacéutica en concordancia con la invención, es una composición de liberación sostenida. Tal como éste se usa en el presente documento, el término "liberación sostenida" significa el hecho de que, un ingrediente farmacéutico activo, se libera, de una composición farmacéutica, a una velocidad controlada, de tal forma que, los niveles terapéuticamente beneficiosos del ingrediente activo, en la sangre se mantengan durante un prolongado período de tiempo, tal como, por ejemplo, de 1 a 24 horas; de 8 a 24 horas; o de 12 a 24 horas.

45 En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, un procedimiento para preparar una composición farmacéutica en concordancia con la invención, comprende el proceder a combinar una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de adición de base de nitroxolina y uno o más portadores o soportes farmacéuticamente aceptables. Cualquier procedimiento conocido en el arte especializado de la técnica, en vistas a la presente descripción se puede usar para combinar la sal de adición de base de nitroxolina, con el uno o más portadores o soportes farmacéuticamente aceptables. Así, por ejemplo, una composición farmacéutica en concordancia con la invención, puede prepararse procediendo a mezclar una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal de adición de base de nitroxolina con uno o más portadores o soportes farmacéuticamente aceptables, en concordancia con las técnicas convencionales de composiciones farmacéuticas, las cuales incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstas, a los procedimientos convencionales de mezclado, de disolución, de granulación, de emulsionado, de encapsulación, de atrape o de liofilización.

60 La solubilidad mejorada de una sal de nitroxolina de adición de base en concordancia con la invención, proporciona formulaciones mejoradas de nitroxolina y composiciones farmacéuticas mejoradas de nitroxolina. De una forma particular, la solubilidad mejorada de las sales de adición de base, permite el hecho de que, estas sales de nitroxolina se formulen como composiciones líquidas. Así, por lo tanto, en una forma preferida de presentación, una composición farmacéutica en concordancia con la invención es una composición líquida. En una forma de presentación particularmente preferida, una composición farmacéutica, es una composición líquida formulada para administración inyectable. Las formulaciones inyectables de sales de nitroxolina, permiten el hecho de que, la nitroxolina, tenga un efecto en los pacientes, de una forma más rápida.

Otro aspecto general de la invención, se refiere a una composición farmacéutica en concordancia con una forma de presentación de la presente invención, para su uso en la prevención y / o el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección, en un sujeto que lo necesita. En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, una composición farmacéutica que comprende una sal de nitroxolina de adición de base, se puede usar en un procedimiento para tratar o prevenir cualquier enfermedad, trastorno o afección, en un sujeto para el que se sabe que la nitroxolina es efectiva.

Tal como se usa aquí, "sujeto", significa cualquier animal, de una forma preferible, un mamífero, de la forma más preferible, un ser humano, a quien se le administrará o se le ha administrado una composición farmacéutica o sal de adición de base de nitroxolina en concordancia con las formas de presentación de la invención. El término "mamífero", tal como éste se usa en el presente documento, abarca a cualquier mamífero. Los ejemplos de mamíferos incluyen, si bien no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a las vacas, los caballos, las ovejas, los cerdos, los gatos, los perros, los ratones, las ratas, los conejos, cobayas, los monos, los humanos, etc., de una forma más preferible, un ser humano.

En una forma de presentación, el término "tratamiento" o "tratamiento", se refiere a una mejora, profilaxis o reversión de una enfermedad o trastorno, o `por lo menos un síntoma discernible de la misma. En otra forma de presentación, el término "tratamiento" o "tratar", se refiere a una mejora, profilaxis o reversión de por lo menos un parámetro físico, susceptible de poderse medir, el cual se encuentre relacionado con la enfermedad o trastorno que se está tratando, no necesariamente discernible en el mamífero o por él. En otra forma de presentación más, "tratamiento" o "tratar" se refiere a inhibir o enlentecer la progresión de una enfermedad o trastorno, bien ya sea físicamente, tal como, por ejemplo, la estabilización de un sistema discernible, o bien fisiológicamente, tal como, por ejemplo, la estabilización de un parámetro físico, o ambos. En todavía otra forma de presentación el término "tratamiento" o "tratar", se refiere a retardar el inicio de una enfermedad o trastorno.

En determinadas formas de presentación, las composiciones de la presente invención, pueden administrarse como una medida preventiva. Tal como se usa en el presente documento, el término "prevenir" o "prevención" se refiere a una reducción del riesgo de adquirir una enfermedad, trastorno o afección dada.

El tratamiento o la prevención de una enfermedad, trastorno o afección, en un sujeto que lo necesita, comprende administrar, al sujeto, una composición farmacéutica en concordancia con la invención. Cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, que comprende una sal de adición de base de nitroxolina, se puede usar en un procedimiento en concordancia con la presente invención, y se puede usar cualquier procedimiento adecuado para administrar la composición farmacéutica al sujeto, en vistas de la presente revelación.

Una persona experta en el arte especializado de la técnica, reconocerá el hecho de que, la cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto a usar en la presente invención, puede variar, en dependencia de factores tales como el sujeto en particular, como por ejemplo, la edad, la dieta, la salud, etc., la gravedad y las complicaciones y los tipos de síntomas, o de la enfermedad, trastorno o afección a tratar o prevenir, la formulación utilizada, etc. Una persona habitualmente experta en el arte especializado de la técnica podría determinar fácilmente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto para administrarla a un sujeto para provocar la respuesta biológica o medicinal deseada en el sujeto, en vistas de la presente revelación.

Las siguientes enfermedades, trastornos o afecciones, pueden tratarse o prevenirse, mediante el uso de una composición farmacéutica en concordancia con la presente invención: infección del tracto urinario y enfermedades asociadas con la angiogénesis, tal como, por ejemplo, un tumor o cáncer. En ciertas formas de presentación, una composición farmacéutica de la presente invención, puede usarse para inhibir la angiogénesis o el crecimiento y la invasión del cáncer.

Tal como éste se usa en el presente documento, "una infección del tracto urinario" se refiere a una infección de cualquier parte del sistema urinario, incluyendo a los riñones, los uréteres, la uretra y la vejiga. Típicamente, una infección del tracto urinario, involucra la parte inferior del sistema urinario, es decir, la vejiga y la uretra. La infección del tracto urinario abarca a la cistitis (es decir, infección de la vejiga), la pielonefritis (es decir, la infección de uno o más riñones) y la uretritis (es decir, la infección de la uretra). Una infección del tracto urinario puede ser causada por especies bacterianas de los géneros *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*; por virus; o por hongos. Las infecciones del tracto urinario son comúnmente causadas por la *Escherichia coli*.

El cáncer, es una proliferación no regulada de las células, debido a la pérdida de los controles normales, lo cual tiene como resultado un crecimiento anormal, una falta de la diferenciación, la invasión local del tejido y, a menudo, metástasis. El tumor, se trata de un crecimiento anormal de células o tejidos, el cual puede ser benigno o maligno. Los tumores o cánceres que se pueden tratar mediante una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero no de una forma limitativa en cuanto a éstos, a la queratosis actínica, el cáncer suprarrenal,

5 el carcinoma de células basales, el cáncer de vejiga, el tumor cerebral, el cáncer de mama, el cáncer de cuello uterino, el cáncer de colon, el cáncer de esófago, el cáncer de cabeza y cuello, la enfermedad de Hodgkin, el sarcoma de Kaposi, el cáncer de laringe, la leucemia, el carcinoma de pulmón, el cáncer de hígado, el melanoma, el mieloma múltiple, la mesotelioma, el cáncer de ovario, el cáncer de páncreas, el cáncer de próstata, el cáncer renal, el cáncer rectal, el cáncer de estómago, el carcinoma de células escamosas, el cáncer de tiroides, el cáncer testicular, el cáncer de tiroides, el cáncer uretino, etc.

10 Las sales de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención, exhiben un aumento inesperado en la excreción urinaria, en comparación con la nitroxolina. Así, por lo tanto, en una forma preferida de presentación de la presente invención, la enfermedad, trastorno o afección a tratar o prevenir, se trata de una infección del tracto urinario.

15 La presente invención, proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para proporcionar un efecto protector urinario. En concordancia con las formas de presentación de la presente invención, el procedimiento, comprende administrar a un sujeto el cual se encuentre en necesidad de ésta, una composición farmacéutica la cual comprende una sal de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención. En una forma preferida de presentación, un procedimiento para proporcionar un efecto protector urinario, proporciona un efecto protector contra una infección del tracto urinario.

20 Los ejemplos que se facilitan a continuación, en concordancia con formas de presentación de la presente invención, son para ilustrar, de una forma adicional, la naturaleza de la invención. Deberá entenderse el hecho de que, los siguientes ejemplos, no limitan la invención y que, el alcance de la invención, deberá determinarse mediante las reivindicaciones anexas.

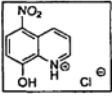
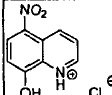
25 EJEMPLOS

30 A menos de que se indique de una forma distinta, las temperaturas, se proporcionan en grados Celsius (°C); las operaciones se llevaron a cabo a la temperatura del recipiente o la temperatura ambiente, de una forma abreviado "rt" (de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a room temperatura), o "RT" (de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a ambient temperature) (típicamente en un rango de aproximadamente 18 - 25 °C; la evaporación del disolvente, se llevó a cabo mediante la utilización de un evaporador rotativo a presión reducida (típicamente, a una presión de 4,5 - 30 mm de Hg) con una temperatura de baño de hasta 60 °C; el curso de las reacciones se controló y supervisó, típicamente mediante cromatografía en capa fina (TLC); los puntos de fusión, no están corregidos; y los productos exhibieron unos resultados satisfactorios de ¹H-NMR y / o de datos microanalíticos. Las siguientes abreviaturas convencionales también se utilizan en la totalidad, de los ejemplos: L (litros), ml (mililitros), mmol (milimoles), M (molaridad, mol / L), g (gramos), mg (miligramos), min (minutos), h (horas), eq. (equivalentes), dd (dobletes de dobletes), d (dobletes), s (singlete), t (tripletes), m (múltiplos)).

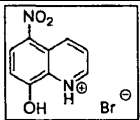
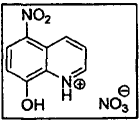
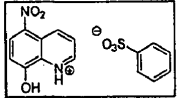
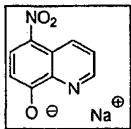
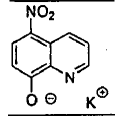
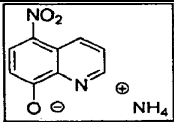
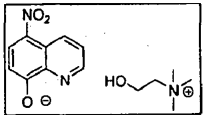
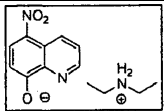
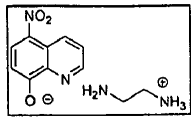
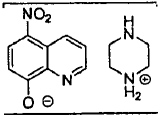
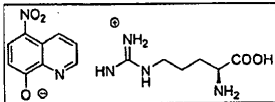
40 A menos de que se especifique de otro modo, la totalidad de los solventes y reactivos se compraron a proveedores y éstos se usaron sin ninguna purificación adicional. Las reacciones, se realizaron bajo una capa de nitrógeno, a menos que se indique de forma contraria. Los compuestos, se visualizaron bajo una lámpara UV (254 nm). Los espectros de ¹H RMN se registraron en una RMN de 300 MHz a 300 MHz.

45 Los ejemplos 1 - 22 describen procedimientos de preparación de diferentes sales de nitroxolina mediante el tratamiento de nitroxolina con reactivos de bases o ácidos en diversos sistemas de disolventes. A modo de ejemplo y de una forma no limitativa, la Tabla 1, muestra ejemplos de bases y de disolventes los cuales se pueden usar para la preparación de sales de nitroxolina, incluyendo a las nuevas sales de adición de base de nitroxolina en concordancia con las formas de presentación de la presente invención.

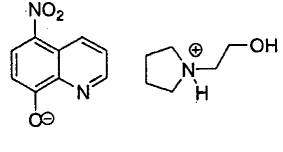
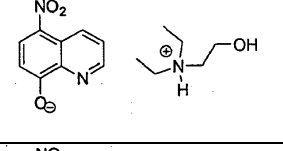
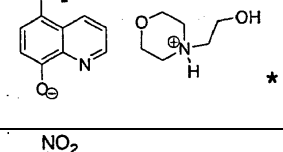
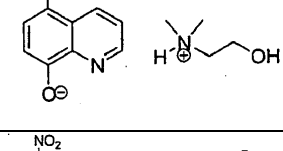
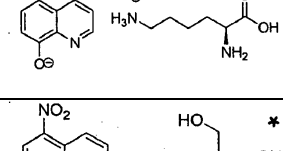
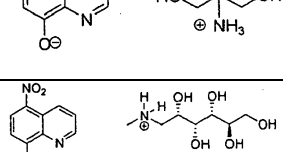
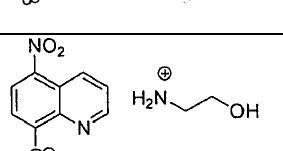
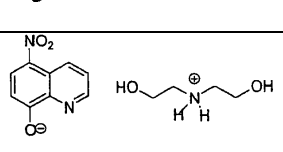

50 Tabla 1. Procedimientos para preparar sales de nitroxolina en concordancia con la presente invención.

Códigos APL	Ácido o base añadido a nitroxolina	Disolventes	Estructura de la sal de nitroxolina
1202 ¹	n / a	n / a	
1071	HCl	MeOH ó agua	 *

(continuación)

Códigos APL	Ácido o base añadido a nitroxolina	Disolventes	Estructura de la sal de nitroxolina
1074	HBr	THF ó agua	 *
1075	HNO ₃	THF	 *
1076	PhSO ₃ H	THF	 *
1072	NaOH	EtOH	 *
1077	KOH	THF	 *
1073	NH ₄ OH	THF	 *
1078	Hidróxido de colina	Isopropanol	 *
1079	Dietanolamina	THF	 *
1080	Etilendiamina	THF	 *
1081	Piperazina	THF	 *
1082	L-Arginina	Isopropanol	 *

(continuación)

1088	1-(2-Hidroxietil)pirrolidina	THF	
1089	2-(Dietilamino)etanol	THF	
1090	4-(2-hidroxietil)morfolina	THF	
1091	N,N-dimetiletanolamina	THF	
1092	Lisina	Isopropanol	
1093	Trometamina	Isopropanol	
1116	N-metilglucamina	THF	
1117	Etanolamina	THF	
1118	Dioalamina	THF	
1 Entrada, se refiere a nitroxolina * Ejemplos referenciales			

Ejemplo 1: Procedimiento para preparar una sal de nitroxolina (APL-1071)

5

A una suspensión de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de MeOH, 1,3 eq. Se le añadió, lentamente, una solución acuosa de HCl al 36 %. Se obtuvo un sólido de tonalidad naranja mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,15 g, 63%). De una forma alternativa, se procedió a calentar la nitroxolina (0,5 g, 2,63 mmol) en 25 ml de una solución acuosa de HCl al 36 %. Se formó, con ello, una solución transparente y, a continuación, ésta se enfrió. Se obtuvo un sólido de tonalidad amarilla (rendimiento productivo: 0,33 g, 55 %) mediante procedimiento de filtrado, pf (punto de fusión): 236 - 240 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO - d₆) δ: 9,20 (d, 1H), 9,03 - 9,05 (dd, 1H), 8,55 - 8,58 (d, 1H), 7,91 - 7,95 (m, 1H), 7,25 - 7,28 (d, 1H).n concordancia con la presente invención.

10

Ejemplo de referencia 2: Procedimiento para preparar sal de nitroxolina HBr <APL - 1074>

15

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 1,5 eq., se le añadió, lentamente, solución acuosa al 40 % de HBr. Se obtuvo, con ello, un sólido de tonalidad amarilla, mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,17 g, 60 %). De una forma alternativa, se procedió a calentar, a reflujo, la nitroxolina (0,5 g, 2,63 mmol) en 25 ml de solución acuosa de HBr al 40 %. Se formó una solución transparente y, a continuación, ésta se enfrió. Se obtuvo, con ello, un sólido de tonalidad amarilla (rendimiento productivo: 0,43 g, 60 %) mediante procedimiento de filtrado, pf (punto de fusión) : 274 - 276 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,24 - 9,28 (dd, 1H), 9,05 - 9,07 (dd, 1H), 8,56 - 8,59 (d, 1H), 7,95 - 7,99 (m, 1H), 7,24 - 7,27 (d, 1H).

Ejemplo de referencia 3: Procedimiento para preparar sal de nitroxolina HNCH (APL - 1075)

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 2,0 eq. se le añadió, lentamente, una solución acuosa al 60 % de HNO₃. Se obtuvo un sólido de tonalidad amarillo oscuro, mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,21 g, 79 %). pf (punto de fusión): > 290 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,20 - 9,23 (dd, 1H), 9,03 - 9,05 (dd, 1H), 8,55 - 8,58 (d, 1H), 7,91 - 7,96 (m, 1H), 7,21 - 7,24 (d, 1H).

Ejemplo de referencia 4: Procedimiento para preparar sal de PhSO³H de nitroxolina (APL - 1076)

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 1,5 eq. se le añadió, lentamente, ácido bencenosulfónico. Se obtuvo, con ello, un sólido de tonalidad amarillo claro, mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,24 g, 65%). pf: 238-241 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,24 - 9,27 (dd, 1H), 9,05 - 9,06 (dd, 1H), 8,56 - 8,59 (d, 1H), 7,95 - 7,99 (m, 1H), 7,58 - 7,63 (m, 2H), 7,32 - 7,36 (m, 3H), 7,23 - 7,26 (d, 1H).

Ejemplo de referencia 5: Procedimiento para preparar sal de sodio de nitroxolina (APL - 1072)

A una suspensión de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de EtOH, 1,5 eq. se le añadió, lentamente, hidróxido de sodio. Se obtuvo un sólido de tonalidad naranja, mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,15 g, 67 %). pf: > 290 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO - d₆) δ: 9,43 - 9,46 (dd, 1H), 8,53 - 8,55 (dd, 1H), 8,39 - 8,42 (d, 1H), 7,55 - 7,59 (m, 1H), 6,22 - 6,26 (d, 1H).

Ejemplo de referencia 6: Procedimiento para elaborar sal de potasio de nitroxolina (APL - 1077)

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 1,5 eq. se le añadió, lentamente, hidróxido de potasio en 1 ml de agua. Se obtuvo un sólido de tonalidad naranja mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,20 g, 83%). pf: > 290 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO - d₆) δ: 9,43 - 9,46 (dd, 1H), 8,51 - 8,53 (dd, 1H), 8,33 - 8,36 (d, 1H), 7,48 - 7,52 (m, 1H), 6,11 - 6,14 (d, 1H).

Ejemplo de referencia 7: Procedimiento para preparar sal de amonio de nitroxolina (APL - 1073)

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 1,4 eq. se le añadió, lentamente, hidróxido de amoniaco. Se obtuvo un sólido de tonalidad naranja mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,17 g, 78 %). pf: 188 - 192 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,40 - 9,43 (dd, 1H), 8,56 - 8,57 (dd, 1H), 8,37 - 8,40 (d, 1H), 7,52 - 7,57 (m, 1H), 6,21 - 6,25 (d, 1H).

Ejemplo 8: Procedimiento para preparar sal de colina de nitroxolina (APL - 1078)

Se procedió a calentar una suspensión de nitroxolina (25 g, 131,6 mmol) y colina (36,5 g, 150,7 mmol, en solución acuosa al 50 %) en alcohol isopropílico (IPA) (350 ml), a reflujo, durante un transcurso de tiempo de 1 h. Se obtuvo una solución clara. Después de eliminar los disolventes al vacío, se añadió IPA (110 ml). A continuación, la suspensión se calentó a una temperatura de 60 °C para proporcionar una solución transparente. Después de enfriar a la temperatura ambiente, se obtuvo un sólido de tonalidad amarilla (29 g) mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 75,6 %). pf: 110 - 113 °C; ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,45 - 9,42 (dd, J = 8,7 Hz, 1,62 Hz, 1H), 8,51 - 8,50 (dd, J = 4,00 Hz, 1,55 Hz, 1H), 8,35 - 8,32 (d, J = 9,93 Hz, 1H), 7,50 - 7,46 (m, 1H), 6,12 - 6,09 (d, J = 9,90 Hz, 1H), 5,34 - 5,31 (t, J = 4,55 Hz, 1H), 3,84 (m, 2H), 3,41-3,38 (t, J = 5,25 Hz, 2H), 3,10 (s, 9H) (Figura 1); LC / MS (M-1): 189 (Figura 2); DSC: 1 12,50 °C (figura 3); y la difracción de rayos X de la materia en polvo (pXRD) 20 y los valores de intensidad pico, se muestran en la Figura 4.

Ejemplo 9: Procedimiento para preparar sal de dietilamina de nitroxolina (APL - 1079)

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 1,8 eq. se le añadió, lentamente, dietilamina. Se obtuvo un sólido de tonalidad amarilla mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,20 g, 72%). pf: 160 - 168 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO - d₆) δ: 9,41 - 9,44 (dd, 1H), 8,57 - 8,59 (dd, 1H), 8,37 - 8,40 (d, 1H), 7,53 - 7,57 (m, 1H), 6,22 - 6,25 (d, 1H), 2,92 - 2,99 (dd, 4H), 1,13-1,18 (t, 6H).

Ejemplo de referencia 10: Procedimiento para preparar sal de etilendiamina de nitroxolina (APL-1080)

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 1,9 eq. Se añadieron lentamente etilendiamina. Se obtuvo un sólido amarillo mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,20 g, 77%). pf: 204-206 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,40 - 9,43 (dd, 1H), 8,55 - 8,57 (dd, 1H), 8,37 - 8,40 (d, 1H), 7,52 - 7,56 (m, 1H), 6,22 - 6,26 (d, 1H), 2,84 (s, 4H).

5

Ejemplo 11: Procedimiento para preparar sal de piperizina de nitroxolina (APL - 1081)

A una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) en 4 ml de THF, 1,5 eq. se le añadió, lentamente, piperazina. Se obtuvo un sólido amarillo mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,25 g, 86 %). Punto de fusión (pf) : 206 - 210 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,41 - 9,44 (dd, 1H), 8,58 - 8,59 (d, 1H), 8,36 - 8,40 (d, 1H), 7,53-7,57 (m, 1H), 6,23 - 6,26 (d, 1H), 2,91 (s, 8H).

10

Ejemplo 12: Procedimiento para preparar sal de L-Arginina de nitroxolina (APL - 1082)

Se procedió a calentar una solución de nitroxolina (0,2 g, 1,05 mmol) y 1,0 eq. de L-Arginina en 4 ml de IPA, a reflujo, durante el transcurso de toda la noche. Después de enfriar a temperatura ambiente, se obtuvo un sólido de tonalidad amarilla, mediante procedimiento de filtrado (rendimiento productivo: 0,33 g, 78%). pf: 198 - 200 °C; y ¹H-NMR (300 MHz, MeOD-d₄) δ: 9,46 - 9,49 (dd, 1H), 8,71 - 8,72 (dd, 1H), 8,58 - 8,61 (d, 1H), 7,61-7,70 (m, 1H), 6,67 - 6,70 (d, 1H), 3,52 - 3,56 (t, 1H), 3,22 - 3,25 (t, 2H), 1,81 - 1,89 (m, 2H), 1,67 - 1,77 (m, 2H).

15

20

Ejemplo 13: Recristalización de sal de colina de nitroxolina en CH₃CN

Se procedió a calentar una suspensión de la sal de hidróxido de colina Nitroxolina (3,5 g) en CH₃CN (100 ml), a una temperatura de 50 - 60 °C, para formar una solución clara. Después de enfriar a la temperatura ambiente, se obtuvieron cristales (2,5 g) mediante procedimiento de filtrado, como un sólido de una tonalidad amarillo claro (rendimiento productivo: 71,4 %). pf: 110 - 113 °C; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,46 - 9,42 (dd, J = 8,70 Hz, 1,53 Hz, 1H), 8,51 - 8,50 (dd, J = 3,99 Hz, 1,41 Hz, 1H), 8,35 - 8,32 (d, J = 8,33 Hz, 1H), 7,50 - 7,46 (m, 1H), 6,12 - 6,09 (d, J = 9,90 Hz, 1H), 5,33 - 5,30 (t, J = 4,68 Hz, 1H), 3,84 (m, 2H), 3,41 - 3,38 (t, J = 5,22 Hz, 2H), 3,10 (s, 9H) (Figura 5); LC / MS (M-1): 189 (Figura 6); DSC: 1 13,31 °C (Figura 7); y la difracción de rayos X de la materia en polvo (pXRD) 20 y los valores de la intensidad pico, se muestran en la Figura 8.

25

30

Ejemplo 14: Procedimiento para preparar sal de 1- (2-hidroxietil) -pirrolidina de nitroxolina (APL - 1088)

A una solución de nitroxolina (1,0 g, 5,26 mmol) en THF (20 ml), se le añadió 1- (2-hidroxietil) -pirrolidina (1,09 g, 9,46 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla, se agitó durante el transcurso de toda la noche, a la temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de tonalidad amarilla (0,8 g, 50% de rendimiento productivo), pf: 102-104°C; ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,34 (d, 1H), 8,69 (d, 1H), 8,40 - 8,43 (d, 1H), 7,61 - 7,65 (m, 1H), 6,47 - 6,50 (d, 1H), 3,59 - 3,63 (m, 2H), 2,97 - 3,03 (m, 6H), 1,77 - 1,84 (m, 4H); y LC / MS (M-1): 189,46.

35

40

Ejemplo 14: Procedimiento para preparar sal de - (2-hidroxietil) -pirrolidina de nitroxolina 1 (APL - 1088)

A una solución de nitroxolina (1,0 g, 5,26 mmol) en THF (20 ml), se le añadió 1- (2-hidroxietil) -pirrolidina (1,09 g, 9,46 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla, se agitó durante el transcurso de toda la noche, a la temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de tonalidad amarilla (0,8 g, 50 % de rendimiento productivo), pf: 102 - 104°C; ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,34 (d, 1H), 8,69 (d, 1H), 8,40-8,43 (d, 1H), 7,61 - 7,65 (m, 1H), 6,47 - 6,50 (d, 1H), 3,59 - 3,63 (m, 2H), 2,97 - 3,03 (m, 6H), 1,77 - 1,84 (m, 4H); y LC / MS (M-1): 189,46.

45

50

Ejemplo 15: Procedimiento para preparar sal de 2-(dietilamino)etanol de nitroxolina (APL - 1089)

A una solución de nitroxolina (1,0 g, 5,26 mmol) en THF (20 ml), se le añadió 2-(dietilamino)etanol (1,1 g, 9,46 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante el transcurso de toda la noche, a la temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de tonalidad amarilla (0,7 g, 43 % de rendimiento productivo), pf: 76 - 78 °C; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,32 (d, 1H), 8,70 - 8,72 (d, 1H), 8,41 - 8,44 (d, 1H), 7,62-7,66 (m, 1H), 6,50 - 6,53 (d, 1H), 3,59 - 3,62 (m, 2H), 2,87-2,95 (m, 6H), 1,07 - 1,18 (m, 6H); y LC / MS (M-1): 189,38.

55

60

Ejemplo de referencia 16: Procedimiento para preparar sal de 4-(2-hidroxietil)-morfolina de nitroxolina (APL - 1090)

A una solución de nitroxolina (1,0 g, 5,26 mmol) en THF (20 ml), se le añadió 4- (2-hidroxietil)-morfolina (0,99 g, 7,54 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla, se agitó, durante el transcurso de toda la noche, a la temperatura ambiente, y después de enfriar a una temperatura de 0 °C, la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de tonalidad amarilla (0,8 g, 47% de rendimiento productivo), pf: 124-128°C; ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 9,18 (d, 1H), 8,95-8,96 (d, 1H), 8,51 - 8,54 (d, 1H), 7,81 - 7,86 (m, 1H), 7,04 - 7,07 (d, 1H), 3,50-3,60 (m, 6H), 2,45 -

65

2,50 (m, 2H); y LC / MS (M-1): 189,44.

Ejemplo 17: Procedimiento para preparar sal de (N, N-dimetiletanolamina) de nitroxolina (APL - 1091)

5 A una solución de nitroxolina (1,0 g, 5,26 mmol) en THF (20 ml), se le añadió N, N-dimetiletanolamina (0,84 g, 9,46 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla, se agitó, durante el transcurso de toda la noche, a la temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de tonalidad amarilla (0,8 g, 55 % de rendimiento productivo), pf: 120-124 °C; ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d6) δ: 9,31 (d, 1H), 8,73 (d, 1H), 8,42 - 8,45 (d, 1H), 7,64 - 7,68 (m, 1H), 6,55 - 6,58 (d, 1H), 3,58 - 3,62 (t, 2H), 2,79 - 2,83 (t, 2H); y LC / MS (M-1): 189,38.

10

Ejemplo 18: Procedimiento para preparar sal de lisina de nitroxolina (APL - 1092)

A una solución de nitroxolina (1,0 g, 5,26 mmol) en isopropanol (20 ml), se le añadió lisina (1,15 g, 7,87 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla, se calentó a reflujo y ésta, se agitó durante el transcurso de toda la noche. La solución se enfrió a la temperatura ambiente y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de tonalidad amarilla (1,2 g, 68 % de rendimiento productivo), pf: 188 - 190 °C; ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d6) δ: 9,42 (d, 1H), 8,56 (d, 1H), 8,35 - 8,38 (d, 1H), 7,51-7,53 (m, 1H), 6,17 a 6,20 (d, 1H), 3,17 - 3,20 (m, 2H), 2,76 - 2,80 (t, 2H), 1,40 - 1,66 (m, 6H); y LC / MS (M-1): 1 89,41.

15

20 Ejemplo de referencia 19: Procedimiento para preparar sal de trometamina de nitroxolina (APL - 1093)

A una solución de nitroxolina (1,0 g, 5,26 mmol) en isopropanol (20 ml), se le añadió trometamina (0,95 g, 7,87 mmol) a la temperatura ambiente. La mezcla, se calentó a reflujo y ésta, se agitó durante una hora. La solución se enfrió a la temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de tonalidad amarilla (1,0 g, 61 % de rendimiento productivo), pf: 154 - 158 °C; ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d6) δ: 9,40 - 9,43 (m, 1H), 8,57 - 8,58 (m, 1H), 8,35 - 8,38 (m, 1H), 7,52 - 7,56 (m, 1H), 6,22 - 6,26 (d, 1H), 5,10 (m, 3H), 3,63 (m, 6H); y LC / MS (M-1): 189,40.

25

Ejemplo 20: Procedimiento para preparar sal de N-metilglucamina de nitroxolina (APL - 1116)

A una solución de nitroxolina (3,0 g, 15,8 mmol) en THF (20 ml), se le añadió N-metilglucamina (5,54 g, 28,4 mmol), a la temperatura ambiente. La mezcla, se calentó, a una temperatura de 70 °C y ésta, se agitó, durante varias horas. La solución, se enfrió a temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de una tonalidad de color amarilla (4,5 g, 74% de rendimiento productivo), pf: 173-176 °C; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ: 9,40 (m, 1H), 8,58 (dd, J = 1,5 Hz, J = 3,9 Hz, 1H), 8,37 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 7,54 (dd, J = 3,9 Hz, J = 9,0 Hz, 1H), 6,24 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,70 - 3,35 (m, 4H), 3,10 - 2,85 (m, 2H), 2,54 (s, 3H); y LC / MS (M-1): 189,47.

35

Ejemplo de referencia 21: Procedimiento para preparar sal de etanolamina de nitroxolina (APL - 1117)

A una solución de nitroxolina (3,0 g, 15,8 mmol) en THF (20 ml), se le añadió etanolamina (1,45 g, 23,7 mmol), a la temperatura ambiente. La mezcla, se calentó, a una temperatura de 70 °C y ésta, se agitó durante varias horas. La solución, se enfrió a la temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de una tonalidad de color amarilla (3,4 g, 76 % de rendimiento productivo), pf: 178 - 180 °C; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ: 9,43 (dd, J = 2,5 Hz, J = 8,9 Hz, 1H), 8,57 (dd, J = 2,5 Hz, J = 4,2 Hz, 1H), 8,39 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 7,55 (dd, J = 4,2 Hz, J = 8,9 Hz, 1H), 6,23 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 3,60 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,19 (t, J = 5,6 Hz, 2H); y LC / MS (M-1): 189,43.

40

45

Ejemplo 22: Procedimiento para preparar sal de diolamina de nitroxolina (APL - 1118)

A una solución de nitroxolina (3,0 g, 15,8 mmol) en THF (20 ml), se le añadió diolamina (2,49 g, 23,7 mmol), a la temperatura ambiente. La mezcla, se calentó, a una temperatura de 70 °C y ésta, se agitó durante varias horas. La solución, se enfrió a la temperatura ambiente, y la suspensión resultante, se filtró, para proporcionar un sólido de una tonalidad de color amarilla (3,39 g, 62% de rendimiento productivo), pf: 142 - 144 °C; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d6) δ: 9,41 (dd, J = 1,5 Hz, J = 8,7 Hz, 1H), 8,61 (dd, J = 1,5 Hz, J = 3,9 Hz, 1H), 8,40 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,58 (dd, J = 3,9 Hz, J = 8,7 Hz, 1H), 6,31 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,64 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 3,00 (t, J = 5,7 Hz, 2H); y LC / MS (M-1): 189,51.

50

55

Ejemplo 23: Pruebas de solubilidad de la nitroxolina y de las sales de nitroxolina.

Se procedió a determinar la solubilidad de las sales de nitroxolina y de la nitroxolina, de la forma que se describe a continuación. Los resultados obtenidos, se resumen en la Tabla 2.

60

1) Las soluciones tampón acuoso con un valor pH variable se prepararon de la siguiente forma:

i. Agua: agua destilada;

ii. tampón con un pH = 1,2: 7,65 ml de solución de HCl al 36,5 % se diluyeron, con agua, a 1000 ml;

65

ES 2 766 758 T3

- iii. tampón con un pH = 4,5: se diluyeron 18 g de acetato de sodio y 9,8 ml de ácido acético, con agua, a 1000 ml;
- iv. tampón con un pH = 5,0: se añadió hidróxido de sodio a una solución de fosfato monosódico (NaH_2PO_4) de 0,2 mol / L, hasta que el pH se ajustó a un valor de 5,0;
- v. tampón con un pH = 6,0: se añadieron 18 g de acetato de sodio, a 20 ml de solución de ácido acético (1 M), y la mezcla, se diluyó con agua, a 500 ml;
- vi. tampón con un pH = 6,8: se añadieron 250 ml de solución de fosfato monopotásico 0,2 M (KH_2PO_4) a 18 ml de solución de hidróxido de sodio 0,2 M, y la mezcla, se diluyó con agua, a 1000 ml;
- vii. tampón con un pH = 7,4: se añadieron 1,36 g de fosfato monopotásico (KH_2PO_4) a 79 ml de solución de hidróxido de sodio 0,1 M, y la mezcla, se diluyó con agua, a 200 ml; y
- viii. tampón con un pH = 8,0: se añadieron 5,59 g de bifosfato de potasio (K_2HPO_4) y 0,41 g de fosfato monopotásico (KH_2PO_4) a 1000 ml de agua, y se procedió a agitar la mezcla.

2) Se procedió a llevar a cabo los tests de ensayo de solubilidad, de una forma general, de la siguiente forma: a una temperatura de 25 ± 2 °C, se pesaron 10 mg de cada muestra de sal y se añadieron a una botella volumétrica de 100 ml. Se añadieron 0,25 ml de tampón, a la botella, la cual se agitó vigorosamente, durante 30 segundos, cada 5 min. La disolución de las muestras se observaron durante 30 minutos. Si la muestra se había disuelto por completo, su solubilidad se marcó como "> 30 mg / ml".

Si la muestra no se había disuelto por completo, se añadían 0,7 ml del mismo tampón y se observaba la disolución, siguiendo el mismo procedimiento de agitación. Si la muestra se había disuelto por completo, su solubilidad se marcaba como "10 <<30 mg / ml".

Si la muestra no se había disuelto por completo, se añadían 8,5 ml del mismo tampón y se procedía a observar la disolución, siguiendo el mismo procedimiento de agitación. Si la muestra no se había disuelto por completo, su solubilidad, se marcaba como "1 <<10 mg / ml".

Si la muestra no se había disuelto por completo, se añadían 85 ml del mismo tampón y se procedía a observar la disolución, siguiendo el mismo procedimiento de agitación. Si la muestra no se había disuelto por completo, su solubilidad, se marcaba como "0,1 <<1 mg / ml".

Si la muestra todavía no se había disuelto de una forma completa, entonces, su solubilidad, se marcaba como "<0,1 mg / ml".

Tests de ensayo de solubilidad de la APL - 1078 (sal de colina de nitroxolina).

Debido al hecho de que 10 mg de APL - 1078 se disolvieron completamente en 0,25 ml de agua y tampón con un pH = 8,0, su solubilidad, se marcó como > 30 mg / ml. En un segundo test de ensayo, se añadieron 50 mg de APL - 1078 a una botella volumétrica de 100 ml de volumen, y se añadieron, por separado, 0,45 ml de agua o tampón con un pH = 8,0. La APL - 1078 se disolvió por completo, lo cual indica el hecho de que, su solubilidad, era > 100 mg / ml, en ambos solventes. En un tercer test de ensayo, se añadieron 50 mg de APL - 1078 a una botella de 100 ml de volumen y se añadieron, por separado, 0,045 ml de agua o tampón con un pH = 8,0. LA APL - 1078 se disolvió por completo, lo cual indica el hecho de que, su solubilidad, era > 1000 mg / ml, en los tres disolventes.

Tabla 2. Solubilidad de la nitroxolina (APL-1202) y las sales de nitroxolina ejemplares ensayadas a diferentes valores pH, los cuales varían dentro de un rango que va de un valor pH 1,2 a un valor pH 8,0.

Código APL	Solubilidad (mg/ml)							
	pH 1.2	pH 4.5	pH 5	pH 6	pH 6.8	pH 7.4	pH 8.0	Agua
1202	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
1071*	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
1074*	1-10	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
1075*	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
1076*	1-10	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
1072*	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1-10
1077*	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	1-10	1-10
1073*	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
1078	0.1-1.0	<0.1	<0.1	<0.1	0.1-1.0	<0.1	>1000	>1000
1079	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	30-100	10-30
1080*	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

(continuación)

Código APL	Solubilidad (mg/ml)							Agua
	pH 1.2	pH 4.5	pH 5	pH 6	pH 6.8	pH 7.4	pH 8.0	
1081	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.1-1.0	<0.1	1-10	0.1-1.0
1082	0.1-1.0	<0.1	<0.1	<0.1	0.1-1.0	<0.1	1-10	<0.1
1088	1-10	NT ¹	NT	NT	<0.1	1-10	NT	30-100
1089	1-10	NT	NT	NT	<0.1	1-10	NT	30-100
1090*	0.1-1.0	NT	NT	NT	<0.1	0.1-1.0	NT	1-10
1091	1-10	NT	NT	NT	<0.1	1-10	NT	30-100
1092	1-10	NT	NT	NT	<0.1	30-100	NT	30-100
1093*	1-10	NT	NT	NT	<0.1	1-10	NT	1-10
1116	0.1-1.0	NT	NT	NT	<0.1	30-100	NT	30-100
1117*	0.1-1.0	NT	NT	NT	<0.1	1-10	NT	1-10
1118	1-10	NT	NT	NT	<0.1	30-100	NT	30-100

NT: No sometido a test de ensayo
*Ejemplos de referencia

Los resultados del experimento, tal como se muestra en la Tabla 2, demuestran el hecho de que, la nitroxolina (compuesto APL - 1202) tiene una solubilidad reducida, a la totalidad de los valores pH probados (< 0,1 mg / ml), es decir, de un valor pH de 1,2 a 8. Las sales de nitroxolina por adición de ácido, tales como los compuestos APL - 1071 (sal de hidrocloreuro), APL - 1074 (sal de hidrobromuro), APL - 1075 (sal de ácido nítrico) y APL-1076 (PhSO₃Sal H) también mostró baja solubilidad a todos los pH probados (<0,1 mg / ml, con la excepción de APL - 1074 y APL - 1076, los cuales mostraban una solubilidad de 1 -10 mg / ml a un valor pH 1,2). Como contraste de ello, las sales de adición de base, particularmente, las obtenidas al tratar la nitroxolina con un hidróxido metálico, tal como los compuestos APL - 1072 (sal de sodio) y APL - 1077 (sal de potasio), o una amina, tal como los APL - 1078 (sal de colina) , APL-1079 (sal de dietilamina), APL-1081 (sal de piperazina) y APL-1082 (L-arginina), mejoraban, significativamente, la solubilidad, a un valor pH fisiológicamente relevante, es decir, a un valor pH de 4,5 a 8.

Así, por lo tanto, la solubilidad de las sales de nitroxolina particulares, no es necesariamente predecible, lo cual ilustra el sorprendente descubrimiento de la presente invención de las sales de adición de base de nitroxolina, las cuales tienen solubilidad mejorada en medio acuoso a un valor pH fisiológico.

Ejemplo 24. Medición de la excreción urinaria, in vivo, de sales de nitroxolina y nitroxolina en perros sabuesos

Se procedió a administrar, a cada uno de los tres perros sabuesos machos con un peso corporal que oscilaba entre 10 y 13 kg, por vía oral, una tableta que contenía 75 mg de nitroxolina, después de ayunar durante el transcurso de toda la noche. Se recogieron muestras de orina en los siguientes períodos de tiempo: 0 - 2, 2-4, 4-6, 6-8, 8-24h. Las muestras de orina, se analizaron mediante el procedimiento LC / MS / MS utilizando un sistema de HPLC Agilent 1100 con un muestreador automático CTC, un espectrómetro de masas AB API4000 y una columna de ACQUITY UPLC BEH C18 (2,1* 50 mm).

Se procedió a utilizar la dexametasona, como patrón interno. El pico de nitroxolina, se controló mediante una m / z = 190,9, objetivizada como diana, y un fragmento de 144,7. Se determinó el hecho de que, el rango de linealidad era de 25 - 5000 ng / ml. Las cantidades de nitroxolina observadas en las muestras de orina, en varios períodos de tiempo, se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Cantidad de nitroxolina observada en muestras de orina de perros sabuesos, a los cuales se les administró nitroxolina.

Tiempo de recolección (h)	Masa (ng)			Media (ng)	SD
	Perro #1	Perro #2	Perro #3		
0-2	5670	60420	105600	57230	50041
2-4	0	13005	5502	9254	NA
4-6	0	817	28696	14757	NA
6-8	0	2582	5808	4195	NA
8-24	49680	5664	8282	21209	24692
Masa total (ng)	55350	82489	153888	97242	50899
Peso corp. (g)	11000	11650	11750	11467	407
Dosis (mg)	75	75	75	75	
*f (%)	0.074	0.11	0.205	0.13	0.068

NA: No disponible
*f (%): Se refiere al porcentaje de masa total del fármaco excretado versus cantidad de la dosis

ES 2 766 758 T3

Se procedió a repetir el mismo estudio, con el compuesto APL - 1092, sal de nitroxolina lisina. A cada perro, se le administró una tableta de 133 mg de APL - 1092, que equivale a 75 mg de nitroxolina, en términos de moles de nitroxolina. Las cantidades de nitroxolina en las muestras de orina, en varios períodos de tiempo, se resumen en la Tabla 4.

5

Tabla 4. Cantidad de nitroxolina observada en muestras de orina de perros sabuesos a los cuales se les administró una sal de lisina de nitroxolina.

Tiempo de recolección (h)	Masa (ng)			Media (ng)	SD
	Perro #1	Perro #2	Perro #3		
0-2	0	15153	163020	89086	NA
2-4	0	130150	219300	174725	NA
4-6	0	96900	0	96900	NA
6-8	0	22165	0	22165	NA
8-24	825000	49575	329400	401325	392684
Masa total (ng)	825000	313943	711720	616888	268402
Peso corp. (g)	11600	12900	10500	11667	1201
Dosis (mg)	75	75	75	75	
*f (%)	1.1	0.419	0.949	0.823	0.358
NA: No disponible *f (%): Se refiere al porcentaje de masa total del fármaco excretado versus cantidad de la dosis					

10

15

Ejemplo 25: Medición de la excreción urinaria *in vivo* de sales de nitroxolina y nitroxolina en ratones.

Cada uno de los seis ratones CDR-1 ICR machos, con pesos corporales que oscilaban entre los 15 y los 20 g, se dosificaron por vía oral, con nitroxolina, a una dosis de 41,8 mg / kg, después de ayunar durante el transcurso de toda la noche. Se recogieron muestras de orina en los siguientes períodos de tiempo: 0-2, 2-6, 6-24h. Debido al pequeño volumen de orina de los ratones, el sistema de recolección en la jaula, se lavó con agua, en cada momento de la recolección. Las muestras de orina y sus muestras de lavado, se analizaron en concordancia con los mismos procedimientos utilizados en el estudio de los perros sabuesos (Ejemplo 24). Las cantidades de nitroxolina observadas en las muestras de orina de los ratones, en diversos períodos de tiempo, se resumen en la Tabla 5.

20

25

Tabla 5. Cantidad de nitroxolina observada en muestras de orina de ratones a los cuales se les administró nitroxolina.

Tiempo de recolección (h)	Masa (ng)						Media (ng)	SD
	Ratón # 9	Ratón # 10	Ratón # 11	Ratón # 12	Ratón # 13	Ratón # 14		
0 - 2	109552	10584	1360	21035	61040	137700	56879	56275
0-2 lavado	2856	6652.8	784	4212	8250	2352	4184	2804
2-6	10404	26418	17600	11412	14715	11000	15258	6112
2-6 lavado	1283	5325	957	2904	1530	346	2057	1812
6-24	47.8	109	50.9	81	1500	71.5	310	583
6-24 lavado	249	1428	2341	1558	1102	152	1138	833
Masa total (ng)	124391	50517	23093	41201	88137	151622	79827	50555
Peso corp. (g)	0.0196	0.0196	0.0188	0.0188	0.0194	0.0186	0.019	0
Dosis (mg)	0.819	0.819	0.786	0.786	0.811	0.777	0.8	0.019
*f (%)	15.2	6.17	2.94	5.24	10.9	19.5	10	6.4
*f (%): Se refiere al porcentaje de masa total del fármaco excretado versus cantidad de la dosis								

30

35

40

45

Se procedió a repetir el mismo estudio, con el compuesto APL - 1092, sal de nitroxolina lisina. Cada ratón recibió una dosificación de APL-1092 a una dosis de 77,7 mg / kg, la cual es equivalente a 41,8 mg / kg de nitroxolina en términos de moles de nitroxolina. Las cantidades de nitroxolina en la orina y las muestras de lavado en varios períodos de tiempo se resumen en la Tabla 6.

50

Tabla 6. Cantidad de nitroxolina observada en muestras de orina de ratones a los cuales se les administró una sal de lisina de nitroxolina.

55

Tiempo de recolección (h)	Masa (ng)						Media (ng)	SD
	Ratón # 15	Ratón # 16	Ratón # 17	Ratón # 18	Ratón # 19	Ratón # 20		
0 - 2	51600	84300	31970	107380	31122	120000	71062	38448
0-2 lavado	113000	25240	15015	25300	47650	19320	40921	37063
2-6	3308.5	5263.2	1084	17458	3500	1846	5410	6077
2-6 lavado	6055	3618	8190	4635	4868	1960	4888	2122
6-24	37.5	101.64	10.4	51	73	79.6	58.8	33
6-24 lavado	296	158	246	286	227	190	234	53.9
Masa total (ng)	174297	118681	56516	155110	87439	143396	122573	44228
Peso corp. (g)	0.0136	0.0144	0.0138	0.0148	0.0134	0.0196	0.015	0.002
Dosis (mg)	0.502	0.531	0.509	0.546	0.494	0.723	0.551	0.087
*f (%)	34.7	22.3	11.1	28.4	17.7	19.8	22.3	8.3

*f (%): Se refiere al porcentaje de masa total del fármaco excretado versus cantidad de la dosis

De una forma más sorprendente, los resultados de los experimentos de los Ejemplos 24 y 25, indican el hecho de que, las sales de adición de base de nitroxolina en concordancia con la invención, y particularmente, la sal de lisina de nitroxolina, demostraron una excreción de orina incrementada, in vivo, en comparación con la nitroxolina misma. Tal como se muestra en la Tabla 7, en la cual se resumen los resultados mostrados en las Tablas 5 y 6, después de dosificar la sal de lisina de nitroxolina, en la cantidad equivalente de nitroxolina, en términos de moles, la sal de lisina de nitroxolina, mostró un aumento en la excreción de los fármacos, en la orina, de los perros sabuesos, en una cantidad de más de cinco veces, en comparación con la de nitroxolina. En ratones, la sal de lisina de nitroxolina también mostró un aumento de la excreción del fármaco en la orina, aunque el grado de incremento, era aproximadamente dos veces mayor que el de la nitroxolina.

Tabla 7. Comparación de la excreción de nitroxolina y la sal de lisina de nitroxolina, en perros sabuesos y en ratones.

	En perros*		En ratones**	
	APL - 1202	APL 1092	APL - 1202	APL 1092
Fármaco acumulado en la orina, en 24 horas (µg)	97 ± 51	617 ± 268	79,8 ± 50,6	139 ± 50
Factor de relación de las dosis excretadas a través de la orina F (%)	0,130 ± 0,068	0,823 ± 0,358	10,0 ± 0,4	22,3 ± 8,3

* En perros, el APL – 1902, se les dosificó en una dosis de 75 mg y, el APL - 1202, se les dosificó en una dosis con una cantidad equivalente de 75 mg de APL - 1202 .
 *En ratones, el APL – 1902, se les dosificó en una dosis de 41,8 mg y, el APL - 1202, se les dosificó en una dosis con una cantidad equivalente de 41,8 mg de APL - 1202 .

REFERENCIAS

- Shim JS, Matsui Y, Bhat S, Nacev BA, Xu J, Bhang HE, Dhara S, Han KC, Chong CR, Pomper MG, So A, Liu JO. Effect of nitroxoline on angiogenesis and growth of human bladder cancer, - Efecto de la nitroxolina sobre la angiogénesis y el crecimiento del cáncer de vejiga, humano -. J Natl Cancer Inst. 2010; 102 (24): 1855 - 73 . Errata en: J Natl Cancer Inst. 2011; 103 (13): 1070.
- Mirkovic B, Renko M, Turk S, Sosic I, Jevnikar Z, Obermajer N, Turk D, Gobec S, Kos J. Novel mechanism of cathepsin B inhibition by antibiotic nitroxoline and related compounds, - Mecanismo novedoso de inhibición de la catepsina B por antibiótico nitroxolina y compuestos relacionados -. ChemMedChem. 2011; 6 (8): 1351 - 6 .
- Jiang H, Taggart JE, Zhang X, Benbrook DM, Lind SE, Ding WQ. Nitroxoline (8-hydroxy-5-nitroquinoline) is more a potent anti-cancer agent than clioquinol (5-chloro-7-iodo-8-quinoline), - La nitroxolina (8-hidroxi-5-nitroquinolina) es un agente anticancerígeno más potente que el clioquinol (5-cloro-7-yodo-8-quinolina) -. Cáncer Lett. 2011; 312 (1): 11 - 7 .
- Bergogne-Berezin E, Berthelot G, Muller-Serieys C. - Present status of nitroxoline, - Estado actual de la nitroxolina -. Pathol Biol (París). 1987; 35 (5 Pt 2): 873 - 8 .
- Yatsenko AV, Paseshnichenko KA, Chernysheva W y Schenkb H Powder diffraction study of the hydrogen bonds in nitroxoline and its hydrochloride Estudio de difracción de la materia en polvo de los enlaces de hidrógeno en nitroxolina y su clorhidrato -. Acta Cryst. 2002; C58: 19 - 21 .
- Gao GY, Lin SY Thermodynamic Investigations of Nitroxoline Sublimation by Simultaneous DSC-FTIR Method and Isothermal TG Analysis, - Investigaciones termodinámicas de sublimación de la nitroxolina mediante procedimiento simultáneo DSC - FTIR y análisis isotérmico de TG -. J. Pharm. Sciences 2009: 1 - 7 .

- 5 Se apreciará el hecho, por parte de aquellas personas expertas en el arte especializado de la técnica, de que se podrían realizar cambios en las formas de presentación descritas anteriormente, sin por ello apartarse del alcance definido por las reivindicaciones anexas. Así, por lo tanto, se entenderá el hecho de que, la presente invención no se limita a las formas de presentación particulares descritas, sino que ésta, pretende cubrir modificaciones dentro del alcance de la presente invención tal como se definen en las reivindicaciones anexas.

REIVINDICACIONES

- 1.- Una sal de amonio cuaternario aislada de nitroxolina, en donde, el amonio cuaternario es colina.
- 5 2.- Una sal de amina aislada de nitroxolina, en la cual, la amina, es una alquilamina sustituida o insustituida, seleccionada de entre el grupo que consiste en dietilamina, 2-dietilaminoetanol, N, N-dimetiletanolamina y diolamina; una amina heterocíclica seleccionada de entre el grupo que consiste en piperazina y 1- (2-hidroxiethyl) -pirrolidina; un aminoácido básico seleccionado de entre el grupo que consiste en arginina y lisina; o N-metilglucamina.
- 10 3.- La sal de amina aislada de la reivindicación 2, en donde, la amina, es lisina.
- 4.- La sal de amina aislada de la reivindicación 2, en donde, la amina, es arginina.
- 15 5. La sal de amina aislada de la reivindicación 2, en donde, la amina, es N-metilglucamina.
6. La sal de amina aislada de la reivindicación 2, en donde, la amina es una alquilamina sustituida o insustituida, seleccionada de entre el grupo que consiste en dietilamina y diolamina.
- 20 7. La sal de amina aislada de la reivindicación 2, en donde, la amina, es una amina heterocíclica seleccionada de entre el grupo que consiste en piperazina y 1- 2-hidroxiethyl) -pirrolidina.
- 8.- La sal aislada de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde, la sal, tiene una solubilidad de por lo menos 0,1 mg / ml, en agua, o un medio acuoso el cual tenga un pH situado entre 4,5 y 8,0.
- 25 9. Un procedimiento para preparar la sal de amina aislada o la sal de amonio cuaternario de nitroxolina de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8, comprendiendo, el procedimiento:
- (i) mezclar nitroxolina y una base de amina o un hidróxido de amonio cuaternario, en un disolvente orgánico para obtener la sal de amina o la sal de amonio cuaternario de nitroxolina; y
- 30 (ii) recuperar la sal de amina o la sal de amonio cuaternario de nitroxolina, del disolvente orgánico, obteniendo así, de este modo, la sal de amina aislada o la sal de amonio cuaternario, de nitroxolina.
- 10.- Un cristal de sal de colina de nitroxolina, en donde, el cristal, presenta picos en los ángulos de difracción (2θ), con una exactitud de ± 0,2θ: 9,96, 12,12, 17,72 y 20,08 en su patrón de difracción de rayos X de la materia en polvo.
- 35 11.- Una composición farmacéutica, la cual comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la sal de amina aislada o la sal de amonio cuaternario de nitroxolina, en concordancia con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, ó el cristal de la sal de colina de nitroxolina en concordancia con la reivindicación 10, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.
- 40 12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11, en donde, la composición farmacéutica, es una composición de liberación sostenida, una composición líquida o una composición formulada para administración inyectable.
- 45 13. Un procedimiento para preparar la composición farmacéutica en concordancia con una cualquiera de las reivindicaciones 11 – 12, el cual comprende combinar la cantidad terapéuticamente efectiva de la sal de amina aislada o la sal de amonio cuaternario de nitroxolina y el uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.
- 50 14.- Una composición farmacéutica en concordancia con una cualquiera de las reivindicaciones 11 – 12, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o afección, o para proporcionar un efecto urinario protector, en un sujeto que lo necesite, en donde, la enfermedad, trastorno o afección, se selecciona de entre el grupo que consiste en una infección del tracto urinario, una enfermedad asociada con la angiogénesis, tumores y cánceres.
- 55 15.- La composición farmacéutica para su uso en concordancia con la reivindicación 14, en donde, la enfermedad, trastorno o afección se selecciona de entre el grupo que consiste en una infección del tracto urinario, cáncer de vejiga, cáncer renal y cáncer de próstata.

Figura 1

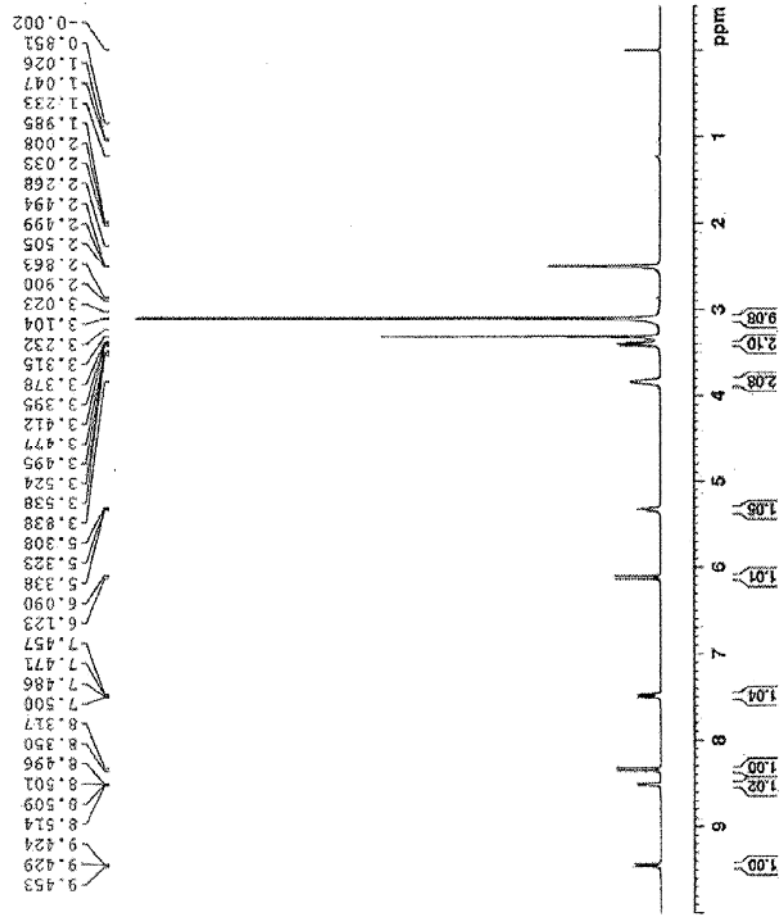


Figura 2

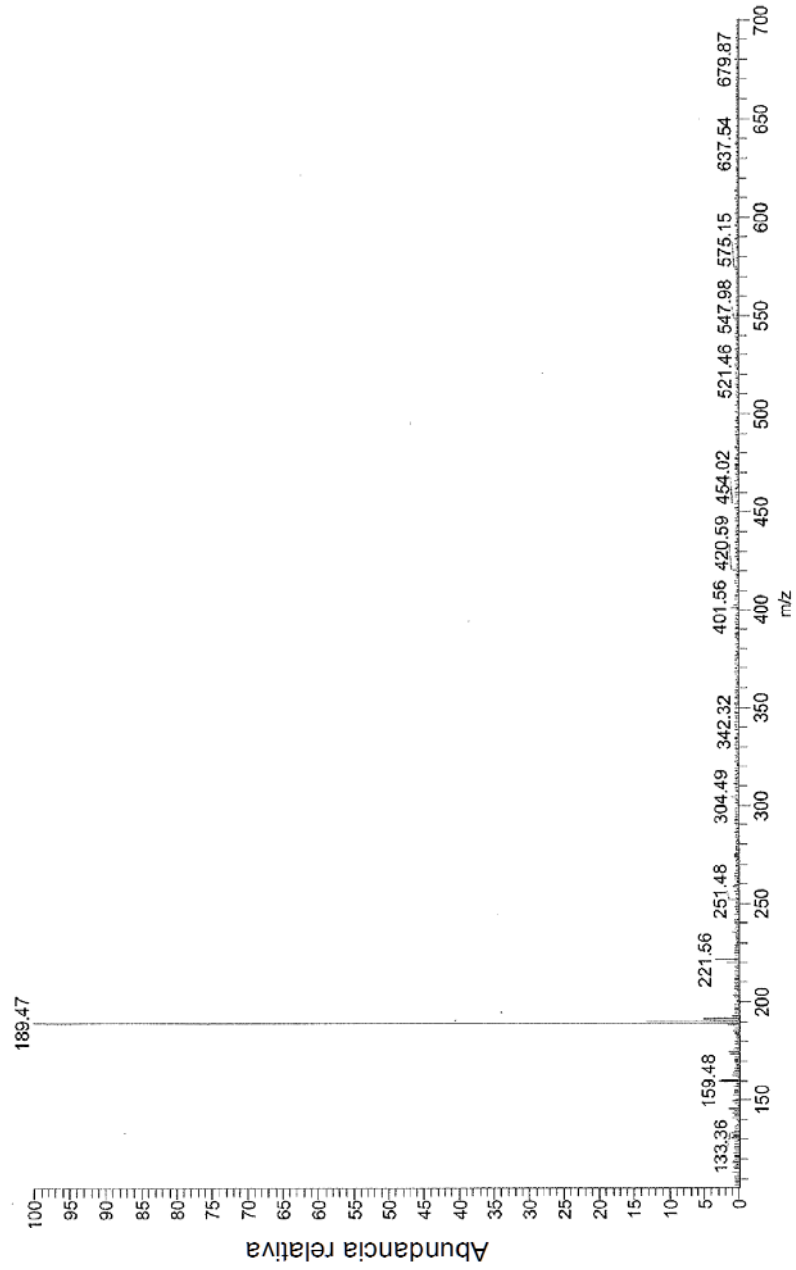


Figura 3

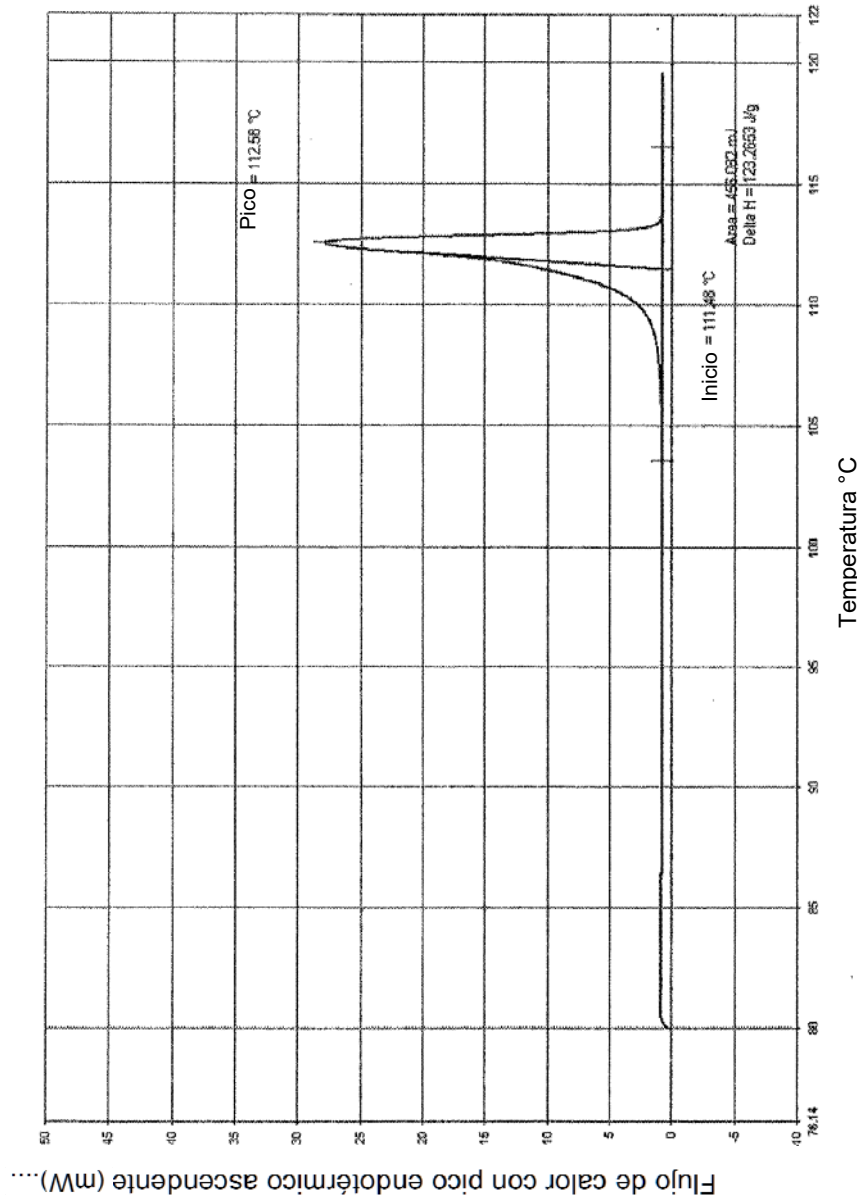


Figura 4

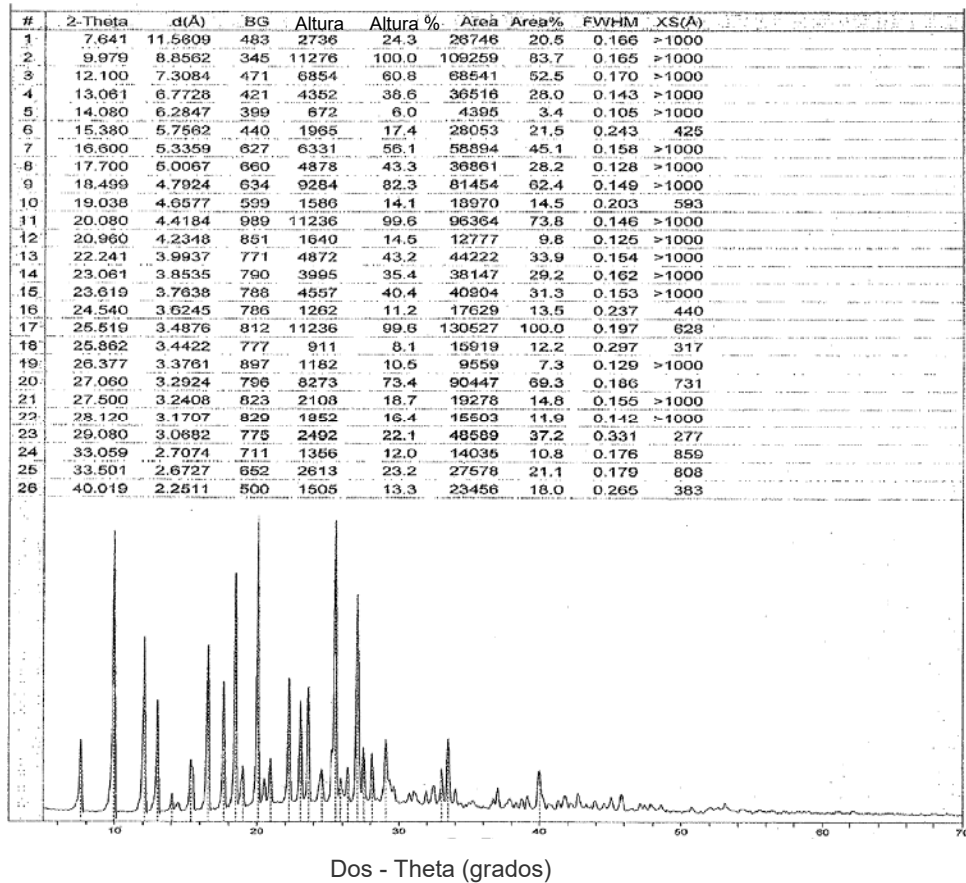


Figura 5

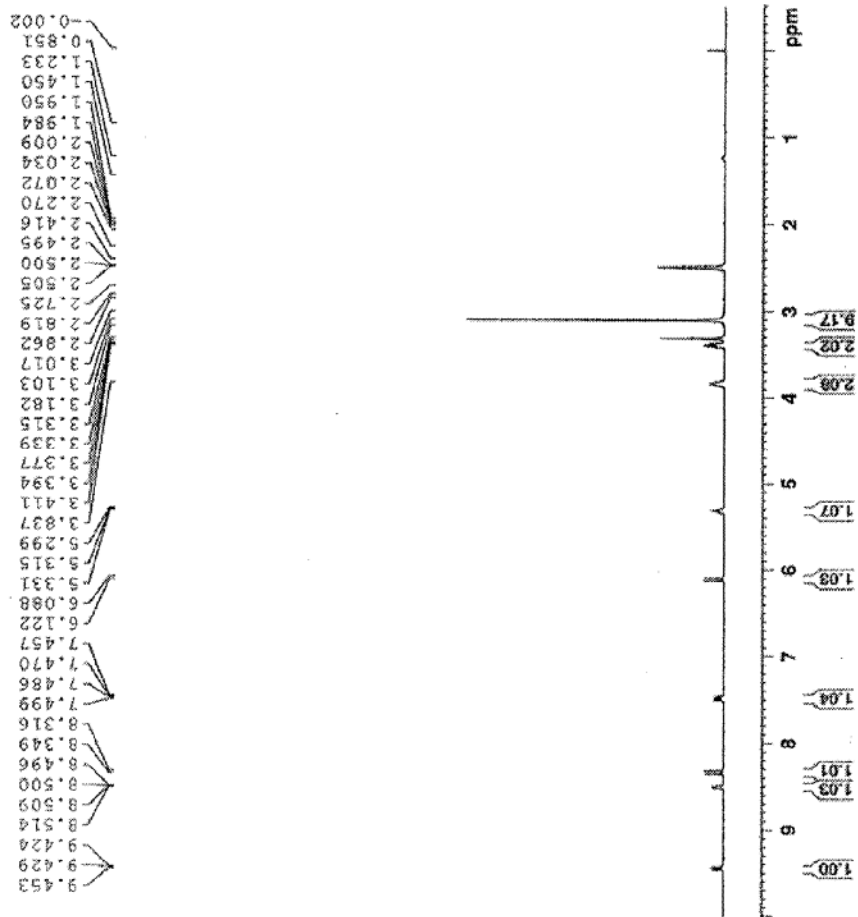


Figura 6

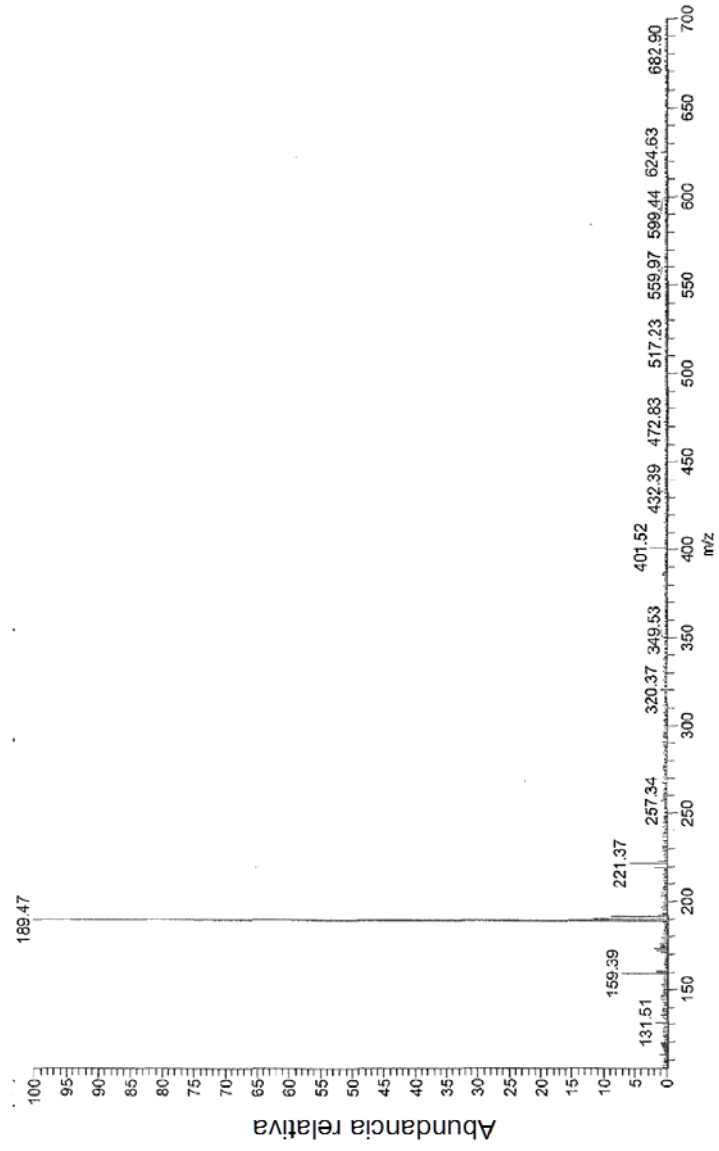


Figura 7

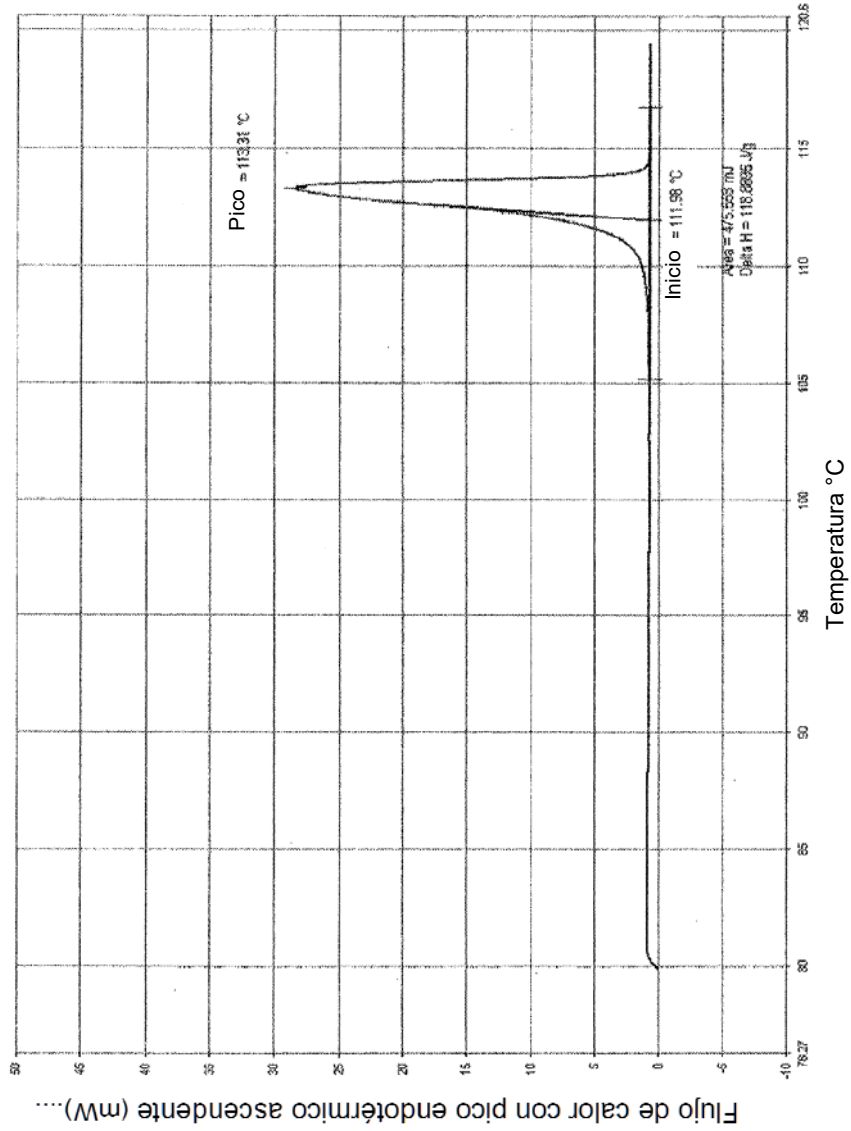


Figura 8

