



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 267 148**

51 Int. Cl.:

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61K 31/155 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **97933813 .4**

86 Fecha de presentación : **06.08.1997**

87 Número de publicación de la solicitud: **0966283**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **29.12.1999**

54 Título: **Productos farmacéuticos para curar y prevenir las enfermedades resultantes del daño de las células endoteliales vasculares.**

30 Prioridad: **09.08.1996 HU 9602204**
04.08.1997 HU 9701349

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2007

73 Titular/es: **CYTRX CORPORATION**
11726 San Vicente Blvd., Suite 650
Los Angeles, California 90049, US

72 Inventor/es: **Jednakovits, Andrea;**
Ürögdí, László;
Marvanyos, Ede;
Barabas, Mihály;
Kurucz, István;
Bacsy, Ernő;
Koranyi, László;
Erdő, Sándor;
Dorman, György;
Vitai, Márta;
Schmidt, György;
Sinka, Márta y
Török, Magdolna

74 Agente: **García-Cabrerizo y del Santo, Pedro**

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

Productos farmacéuticos para curar y prevenir las enfermedades resultantes del daño de las células endoteliales vasculares.

Campo técnico de la invención

La invención se refiere a productos para curar o prevenir las enfermedades resultantes del daño de las células endoteliales vasculares, que contienen un derivado de la hidroxilamina de fórmula general (I) o (II) como agente eficaz.

Antecedentes de la invención

El funcionamiento normal de las células endoteliales vasculares es de crucial importancia para el organismo. Estas células forman una superficie límite entre la sangre que circula y los elementos de la pared venosa que realizan actividad trombogénica. El papel de las células endoteliales vasculares en la homeostasis es bastante variado:

- participan en el transporte bidireccional de sustancias con origen en la sangre y en los tejidos,
- forman una barrera para las macromoléculas,
- estas células son la ubicación de la síntesis y descomposición de los mediadores que actúan en la regulación de la interacción entre los elementos celulares de la pared venosa y la sangre (por ejemplo, fibrinógeno, colágeno, proteoglucanos, PGI₂, EDRF (NO), EDHF, endotelina-1, angiotensina-II),
- inician el proceso migracional, proliferativo y trombolítico contribuyendo a la reparación hística,
- mantienen la tromboresistencia de la pared venosa [Rubanyl, G., J. Cardiovasc. Pharmacol. 1993, 22 (42. Suppl., pág. S1 - 14]

El daño del endotelio da como resultado aterosclerosis. El daño que lleva al deterioro del endotelio puede producirse por una intervención mecánica, por ejemplo cateterización, y también como resultado de procesos bioquímicos o inmunológicos.

En la primera etapa de la formación de la placa aterosclerótica, las células llenas de lípidos se acumulan en la íntima de las arterias (Steinberg D. *et al.*, JAMA 264-304, 1990). Estas células (especialmente monocitos y macrófagos que se originan en la sangre) primero se pegan al endotelio y después penetran en la íntima. La lesión de las células endoteliales también puede contribuir a la adhesión, aunque no sea visible una alteración morfológica en la fase temprana. La oxidación de las partículas de LDL puede dar como resultado su incorporación por los monocitos ubicados en la íntima, y así los monocitos se transforman en células espumosas. Estas células espumosas forman las estrías lipídicas, la forma más temprana de la alteración arteriosclerótica.

En fases posteriores, se producen hemorragias, necrosis, neovascularización, y esclerosis, y en el transcurso de ello, se forma la placa de intercrecimiento, que entonces estrecha las arterias (Ip. JH, Fuster *et al.*, J. Am. Coll. Cardiol 15:1667, 1990).

Se puede producir trombosis en diversas fases de la aterosclerosis. La trombosis repetida lleva a la obstrucción vascular y enfermedades tromboembólicas, tales como la trombosis coronaria, la trombosis de los vasos del cerebro o enfermedades vasculares periféricas.

En un sentido clínico, “síndrome de disfunción endotelial” se refiere a vasoespasma, trombosis, arteriosclerosis, y reestenosis generalizada o localizada. Los intentos para curar estas enfermedades incluyen técnicas clínicas intervencionales, cirugía de derivación, y tratamiento medicinal.

Sólo unos pocos fármacos existentes pueden ser adecuados para el “tratamiento” de la disfunción endotelial. Se clasifican en cuatro categorías principales:

- sustitución por sustancias endoteliales “protectoras” naturales (por ejemplo análogos estables de PGI₂, nitro-vasodilatadores, rt-PA/ activador de plasminógeno de tejido recombinante/)
- inhibidores o antagonistas de factores de contracción derivados del endotelio (por ejemplo inhibidores ACE, antagonistas del receptor de angiotensina II: antagonistas del receptor de TXA₂)
- agentes citoprotectores (por ejemplo antioxidantes superoxidodismutasa y probucol, y lazaroides inhibidores de la producción de radicales libres)
- fármacos hipolipemiantes.

Aunque ninguno de ellos se diseñó originalmente para este objetivo, sus efectos clínicamente beneficiosos ya probados en el caso de ciertas enfermedades pueden suponer la protección o restauración de la función endotelial normal. El fundamento tras los tratamientos innovadores en esta categoría es la restauración de las células del revestimiento endotelial normal, en el que las propias células “harán el trabajo”. Enfoques potenciales pueden incluir la estimulación del nuevo crecimiento del endotelio normal, o nuevas modalidades terapéuticas emergentes basadas en la tecnología del ADN recombinante (Science 1990; 249: 1285-8). Según los datos disponibles, no se conoce ningún fármaco que cumpla estos criterios.

Hoy en día no se conoce ningún medicamento o candidato a medicamento que actúe directamente en el endotelio, y por tanto ninguno es apto para tratar la disfunción endotelial. Por tanto, hay una gran demanda terapéutica de un medicamento que pueda prevenir, invertir, o al menos frenar la formación de síntomas de complicación, o disminuir la aparición de la enfermedad.

Sumario de la invención

En el curso de la investigación se ha encontrado que los derivados de la hidroxilamina de fórmula general (I) y (II) realizan un fuerte efecto de protección y regenerativo en las células endoteliales vasculares, y pueden prevenir su daño por orígenes diversos. Por tanto la presente invención se refiere al uso de esos compuestos para la fabricación de un producto farmacéutico para el tratamiento de ciertas enfermedades tal como se define en la reivindicación 1.

En las fórmulas generales (I) y (II), R^1 y R^2 se refieren de manera independiente a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno intermedio forman un grupo heterocíclico de 5 a 7 miembros saturado, que contiene opcionalmente otros heteroátomos de nitrógeno y/u oxígeno, A se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado de 4 a 12 átomos de carbono, un grupo fenilo, sustituido o no sustituido, que contiene opcionalmente un grupo alquilo, haloalquilo o nitro como sustituyente, o un anillo heteroaromático de 5 - 6 miembros que contiene nitrógeno, oxígeno o azufre, en los compuestos de fórmula general (I), Z se refiere a un enlace covalente, y en los compuestos de fórmula general (II) a un enlace covalente o a un grupo =NH,

en los compuestos de fórmula general (I), X se refiere a un átomo halógeno o a un grupo $-NR^3R^4$, en el que R^3 y R^4 se refieren de manera independiente a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, mientras que en los compuestos de fórmula general (II) X se refiere a un átomo de oxígeno,

en los compuestos de fórmula general (II), R' se refiere a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, y

en las fórmulas generales (I) y (II), Y se refiere a un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo o un grupo aciloxilo, que contiene la parte acilo de una ácido graso de cadena larga de 8 a 22 átomos de carbono, o de una ácido carboxílico aromático como su componente acilo,

o en los compuestos de fórmula general (I) en los que X se refiere a un grupo $-NR^3R^4$ e Y se refiere a un grupo hidroxilo, el grupo X está condensado con el sustituyente Y y forma un anillo intramolecular de fórmula general (III).

Las sales y las formas ópticamente activas de esos compuestos también son compuestos eficaces.

Los compuestos de fórmula general (I) en los que X se refiere a un grupo $-NH_2$, y A se refiere a un grupo piridilo o fenilo no sustituido, y en los que Y se refiere a un grupo hidroxilo ya se conocen a partir de la solicitud de patente francesa número 2362 845 A1. Estos compuestos son, según la solicitud de patente citada anteriormente, betabloqueantes selectivos, y por tanto son adecuados para el tratamiento de angiopatía diabética.

Los compuestos de fórmula general (I) en los que X se refiere a un átomo halógeno, Y se refiere a un grupo hidroxilo, y A a un grupo piridilo o fenilo sustituido o no sustituido ya se conocen a partir de la solicitud de patente PCT publicada número WO 90/04584 A1. Estos compuestos tienen un efecto betabloqueante selectivo, y por tanto son adecuados como agentes eficaces en el tratamiento de angiopatía diabética.

Los compuestos de fórmula general (II) en los que A se refiere a un grupo fenilo (sustituido o no sustituido por un grupo haloalquilo), piridilo, o tienilo, Z se refiere a un enlace covalente, R' se refiere a un átomo de hidrógeno, e Y a un grupo hidroxilo ya se conocen a partir de la solicitud de patente húngara número 2385/92, publicada con el número T/66350. Estos compuestos tienen un efecto antiisquémico y antianginoso, y por tanto pueden usarse en el tratamiento de complicaciones venosas relacionadas con diabetes mellitus.

Los compuestos de fórmula general (I) en los que A se refiere a un anillo aromático o heteroaromático y X a un átomo halógeno, mientras que Y se refiere a un átomo de hidrógeno ya se conocen a partir de la solicitud de patente PCT publicada número WO 95/30649 A1. Estos compuestos tienen efecto antiisquémico, y pueden usarse mejor en el tratamiento de apariciones de isquemia de las que son características venas hipertónicas y agregado de trombocitos.

En ninguna de las memorias descriptivas citadas anteriormente está escrito que los compuestos descritos deban tener algún efecto en las células endoteliales vasculares.

ES 2 267 148 T3

Como se menciona anteriormente, la investigación ha probado que los compuestos de fórmulas generales (I) y (II) son eficaces en las células endoteliales de los sistemas cardiovascular y cerebrovascular. En los experimentos en los que nos ocuparemos en detalle después, se ha observado que estos compuestos pueden bloquear o restaurar el daño de esas células. Por tanto, estos compuestos pueden usarse como sustancias eficaces en productos terapéuticos que se usan en el tratamiento de enfermedades resultantes del funcionamiento anómalo o el daño de las células endoteliales, especialmente enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, hiperhomocistinemia, y enfermedades vasculares periféricas.

Basándose en esta observación, la invención se refiere a la aplicación de los derivados de la hidroxilamina de fórmulas generales (I) y (II), en las que R^1 y R^2 se refieren de manera independiente a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono; o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno intermedio forman un grupo heterocíclico de 5 - 7 miembros saturado, que contiene opcionalmente otros heteroátomos de nitrógeno y/u oxígeno, A se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado de 4 a 12 átomos de carbono, un grupo fenilo, sustituido o no sustituido, que contiene opcionalmente un grupo alquilo, haloalquilo o nitro como sustituyente, o un anillo heteroaromático de 5 - 6 miembros que contiene nitrógeno, oxígeno o azufre, en general fórmula (I), Z se refiere a un enlace covalente, y en la fórmula general (II) a un enlace covalente o a un grupo $=NH$,

en la fórmula general (I), X se refiere a un átomo halógeno o a un grupo $-NR^3R^4$, en el que R^3 y R^4 se refieren de manera independiente a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, mientras que en la fórmula general (II) X se refiere a un átomo de oxígeno,

en la fórmula general (II), R' se refiere a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, y

en las fórmulas generales (I) y (II), Y se refiere a un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo o un grupo aciloxilo, que contiene la parte acilo de un ácido graso de cadena larga de 8 a 22 átomos de carbono, o de un ácido carboxílico aromático como su componente acilo,

o, en ciertos tipos de compuestos de fórmula general (I) en la que X se refiere a un grupo $-NR^3R^4$ e Y se refiere a un grupo hidroxilo, el grupo X está condensado con el sustituyente Y y forma el anillo intramolecular representado por la fórmula general (III), en la que A, Z, R^1 y R^2 tienen el mismo significado que anteriormente,

además, de las sales y formas ópticamente activas de esos compuestos para la producción de medicamentos usados para el tratamiento o prevención de enfermedades resultantes del daño de las células endoteliales vasculares, elegidas del grupo que consiste en hiperhomocistinemia y reestenosis debido a la cateterización y cirugía de derivación coronaria.

La invención se refiere también a productos farmacéuticos usados para el tratamiento y prevención de enfermedades en relación con el funcionamiento anómalo de las células vasculares que contienen, como sustancia eficaz (aparte de las sustancias excipientes comunes y sustancias auxiliares usadas en composiciones farmacéuticas) un compuesto de fórmula general (I) o (II) en un 0,5-95,5% m/m, o en ciertos casos las sales o formas ópticamente activas de esos compuestos, y en esas fórmulas las referencias de R^1 , R^2 , A, Z, X, Y, y R' son las mismas que anteriormente.

Los compuestos de fórmula general (I) y (II) se prefieren para la aplicación descrita en la invención, en la que A se refiere a un grupo piridilo, tienilo, fenilo, nitrofenilo o trifluorometilfenilo. También se prefieren los compuestos de fórmula general (I) en la que X se refiere a un átomo de cloro o a un grupo NH_2 . De estos últimos compuestos se prefieren particularmente aquellos que contienen un anillo intramolecular formado por la condensación de los grupos X e Y. También se prefieren los compuestos de fórmula general (II), en los que R' se refiere a un átomo de hidrógeno, y aquellos compuestos de fórmula general (I) o (II) en los que Y se refiere a un átomo de hidrógeno o a un grupo hidroxilo. En todas estas categorías enumeradas se prefieren aquellos compuestos en los que el grupo NR^1R^2 se refiere a un grupo piperidino o dialquilamino.

Se prefieren especialmente los siguientes compuestos de fórmula general (I) y (II) para la invención:

(Z)-2-butenodiato de N-[2-benzoiloxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida (1:1) (compuesto número 1).

Monoclorhidrato de N-[2-palmitoiloxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida (compuesto número 2).

Monoclorhidrato de cloruro de N-[3-[(1,1-dimetiletil)amino]-2-hidroxipropoxi]-3-trifluorometilbencenocarboximidoflo (compuesto número 3).

Monoclorhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-tiofenocarboximidoflo (compuesto número 4).

ES 2 267 148 T3

Monoclorhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-bencenocarboximidofo (compuesto número 5).

(Z)-2-butenodiato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-4-piridincarboximidofo (1:1) (compuesto número 6).

Monoclorhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-nitrobencenocarboximidofo (compuesto número 7).

Diclorhidrato de cloruro de N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidofo (compuesto número 8).

Monoclorhidrato de cloruro de N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-nitrobencenocarboximidofo (compuesto número 9).

N-[3-[(1,1-dimetiletil)amino]-2-hidroxipropoxi]-3-trifluorometilbenzamida (compuesto número 10).

N-hexil-N'-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-urea (compuesto número 11).

N-hexil-N'-[3-(1-piperidinil)propoxi]-urea (compuesto número 12).

5,6-dihidro-5-(1-piperidinil)metil-3-(3-piridil)-4H-1,2,4-oxadiazina (compuesto número 13).

Los compuestos de fórmula general (I) en los que X se refiere a un átomo halógeno pueden prepararse haciendo reaccionar una amidoxima de fórmula general (V), en la que A tiene la misma referencia que anteriormente con un derivado de aminocloropropano, en el que R¹, R² e Y tienen las mismas referencias que anteriormente y el grupo -NH₂ del compuesto intermedio resultante de fórmula general (IV), en el que Z se refiere a un enlace covalente mientras que los otros sustituyentes tienen las mismas referencias que anteriormente, se sustituye con un átomo halógeno por diazotación. En los casos en que se produce un compuesto de fórmula general (I) que contiene un grupo hidroxilo como sustituyente Y puede producirse el derivado de aminocloropropano necesario de fórmula general (XII) que contiene un grupo hidroxilo como sustituyente Y a partir de la epiclorhidrina de fórmula (VI) y una amina de fórmula general (IX), en la que R¹ y R² tienen las mismas referencias que anteriormente. Un procedimiento alternativo es hacer reaccionar en primer lugar la epiclorhidrina con la amidoxima de fórmula general (V), y después diazotar el compuesto intermedio resultante de fórmula general (VII), en el que A se refiere a lo mismo que anteriormente y hacer reaccionar el compuesto epoxídico de fórmula general (VIII), en el que A se refiere a lo mismo que anteriormente con la amina de fórmula general (IX).

Los compuestos de fórmula general (I), en los que Y se refiere a un grupo aciloxilo pueden producirse mediante una reacción de los compuestos adecuados de fórmula general (I) que contienen un grupo hidroxilo en lugar de Y, y cloruros ácidos de fórmula general (XI), en los que R⁵ se refiere a un alquilo de cadena larga o a un grupo arilo.

Los compuestos de fórmula general (II) que contienen enlaces covalentes en lugar de Z pueden producirse mediante uno de los siguientes métodos:

(i) conectar un hidroxamato alcalino de fórmula general (XIII) en el que A y R' tienen la misma referencia que anteriormente y K se refiere al catión de un metal alcalino, y un compuesto halógeno de fórmula general (XII) en el que R¹, R² e Y tienen las mismas referencias que anteriormente, o

(ii) la reacción de un compuesto amino de fórmula general (XIV) en el que R¹, R², Y y R' tienen la misma referencia que anteriormente, y un halogenuro ácido en el que A tiene la misma referencia que anteriormente,

mientras que los compuestos de fórmula general (II) que contienen un enlace covalente en lugar de Z, y un átomo de hidrógeno en lugar de R' también pueden producirse (aparte de mediante los métodos (i) y (ii)) mediante los siguientes métodos:

(iii) la diazotación en un entorno libre de halógenos de un compuesto de fórmula general (I) adecuado que contiene un grupo -NH₂ en lugar de X, y un enlace covalente en lugar de Z, o

(iv) la hidrólisis de un compuesto de fórmula general (I) adecuado que contiene un átomo halógeno en lugar de X.

Los compuestos de fórmula general (II) en los que A se refiere a un grupo alquilo y Z se refiere a un grupo =NH pueden producirse por la reacción de un compuesto de fórmula general (11) en el que R¹, R², Y y R' tienen las mismas referencias que anteriormente, en un disolvente orgánico, preferiblemente en cloroformo, con una cantidad equimolar de isocianato de alquilo en el que A se refiere a un grupo alquilo.

Los compuestos de fórmula general (III) son casos especiales de los compuestos de fórmula general (I) en los que un grupo X que contiene nitrógeno se condensa con el sustituyente Y para formar un anillo intramolecular.

Tales compuestos pueden producirse por la reacción de un compuesto de fórmula general (I) (en el que Y se refiere a un grupo hidroxilo) con un exceso de cloruro de tionilo, seguido del cierre del anillo del compuesto intermedio resultante de fórmula general (IV) (en el que Y se refiere a un átomo de cloro, mientras que los otros sustituyentes tienen las mismas referencias que anteriormente) con un exceso de terc-butóxido de potasio en ebullición con un disolvente orgánico (preferiblemente en t-butanol).

Los derivados de la hidroxilamina de la invención guardan propiedades farmacológicas sorprendentes. Debe observarse especialmente, que no solamente regeneran las células endoteliales morfológicamente, sino que también funcionalmente, es decir, debido a su efecto sobre las células endoteliales es también notable la buena tolerancia a esos compuestos. Estas características forman la base del uso farmacéutico de los derivados de la hidroxilamina de fórmulas generales (I) y (II). Estos medicamentos pueden usarse para tratar enfermedades cardio- y cerebrovasculares de seres humanos y animales, tales como la hiperhomocistinemia y enfermedades vasculares periféricas.

Entre las enfermedades cardiovasculares, estos compuestos se usan específicamente en los casos de enfermedades arteriales coronarias, reestenosis tras la cateterización, y cirugía de derivación coronaria, y entre las enfermedades cerebrovasculares en los casos de oclusión arterial cerebral, o en el tratamiento de las enfermedades vasculares periféricas se usan mejor cuando se produce en las piernas la estenosis aórtica.

Los compuestos de la invención también pueden usarse para contrarrestar la propensión a enfermedades debidas al mecanismo protector genéticamente determinado o temporalmente debilitado. La dosis común depende del paciente tratado y de la enfermedad que nos ocupa y puede variar en el intervalo de 0,1 - 200 mg/kg, preferiblemente de 1 - 50 mg/kg, diariamente. Esto puede significar, por ejemplo, que la dosis diaria para el tratamiento humano es de entre 10 a 200 mg por vía oral, de 1 a 15 mg por vía rectal, o de 2 a 20 mg por vía parenteral, para pacientes adultos.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas pueden ser por ejemplo sustancias sólidas o líquidas, en cualquier tipo de formulación farmacéutica generalmente usada en tratamientos humanos o veterinarios, tales como comprimido simple o recubierto, cápsula de gel, granulados, disolución, jarabe, supositorio, producto inyectable liofilizado o no liofilizado; éstos pueden producirse por métodos comunes. La sustancia eficaz puede transportarse por los vehículos comunes para estos tipos de productos farmacéuticos, tales como talco, goma arábica, lactosa, almidón, estearato de magnesio, manteca de cacao, excipientes acuosos o no acuosos, grasas animales o vegetales, derivados de la parafina, glicoles; varias sustancias humectantes, dispersantes o emulsionantes y conservantes.

Los efectos biológicos de los compuestos de la invención representados por las fórmulas generales (I) y (II) se ilustran mediante los siguientes resultados de la prueba del efecto relajación de la vena realizada *in vitro* en ratas, y de la prueba morfológica de la aorta torácica. Se trataron ratas Wistar Okamoto espontáneamente hipertensas (EH) de tres meses de edad durante un mes con diversos compuestos probados, seguido de exploraciones funcionales y morfológicas.

El efecto de relajación de la vena de los derivados de la hidroxilamina probados sobre la aorta torácica de las ratas EH (prueba in vitro)

La prueba se realizó según el método conocido a partir la bibliografía que se aplica [Japan J. Pharmacol., 59, 339-347 (1992)]. Las ratas EH se narcotizaron con Nembutal (40 mg/kg, i.p.), y su aorta torácica se extrajo y se introdujo en una disolución oxigenada (95% de O₂ + 5% de CO₂) de Krebs-Henseleit. La composición de la disolución (nM): NaCl 118, KCl 4,7, CaCl₂ 2,52, MgSO₄ 1,64, NaHCO₃ 24,88, KH₂PO₄ 1,18, glucosa 5,5. Los anillos de la aorta de 3 mm de longitud se colocaron en un baño para órganos de 20 ml a 37°C. La tensión de reposo fue de 1 g, la cual se mantuvo durante todo el experimento. Durante el periodo de equilibrado de 1 hora el medio del baño para órganos se cambió cada 20 minutos. Los vasos se contrajeron con metoxamina 10⁻⁶ M (aproximadamente el 80% de la contracción máxima). Después de alcanzar la contracción máxima, se probó la vasodilatación inducida por acetilcolina (Ach) (10⁻⁶ - 10⁻⁴ M) y la integridad funcional del endotelio. La fuerza de contracción se midió con una sonda de medición de tensión isométrica (SG-01D Experimentia Ltd), y se registró en un polígrafo OH-850 (Radeikis). Los resultados de las pruebas se resumen en la tabla número 1.

TABLA 1

El efecto vasorelajador de los compuestos de la invención en la aorta torácica de ratas EH (prueba in vitro)

5	Sustancias / Dosis	Dosis de Ach (M)		
		10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
10	Control de EH, n=10	53,8	55,6	71,0
	Compuesto número 13, n=12; 20 mg/kg	79,6	86,0	95,9
	Compuesto número 5, n=11; 5 mg/kg	82,3	84,5	87,2
15	Compuesto número 4, n=11; 20 mg/kg	75,6	79,8	80,5
	Compuesto número 6, n=10; 5 mg/kg	87,5	87,9	84,4
20	Compuesto número 10, n=12; 10 mg/kg	64,8	63,7	78,0
	Compuesto número 1, n=12; 20 mg/kg	74,7	58,7	82,7
	Compuesto número 2, n=10	80,4	75,6	88,0
25	Compuesto número 11, n=12; 20 mg/kg	88,1	91,3	91,9
	Compuesto número 8, n=10; 5 mg/kg	74,1	75,3	80,9
30	Compuesto número 3, n=8; 10 mg/kg	76,4	77,2	84,8
	Compuesto número 12, n=12; 10 mg/kg	66,3	67,2	84,1
	Compuesto número 7, n=11; 5 mg/kg	81,7	86,0	95,9
35	Captoprilo, n=8; 20 mg/kg	88,7	88,2	94,2

40 Tal como resulta claro a partir de la tabla, en el caso de animales de control hipertónicos sin tratar la relajación provocada por la administración de acetilcolina 10^{-4} M disminuyó al 71%, lo cual se debe al daño en el endotelio provocado por la hipertensión. Los compuestos probados mejoraron esta disminución de la vasodilatación de manera significativa, lo cual muestra la mejora de la función endotelial.

45 *Exploración morfológica de la aorta torácica con microscopio electrónico*

Esta prueba se realizó según la bibliografía que se aplica (Br. J. of Pharmacol., 1995; 115, 415-420). Se separaron segmentos de 1 mm² de pared de la aorta de la aorta torácica de las ratas, y entonces se fijaron a temperatura ambiente con glutaraldehído al 2,5%. Seguidamente se realizó una fijación posterior tetróxido de osmio al 1%, lo cual duró 1 hora. Después, los segmentos de tejido se deshidrataron con etanol y se asentaron en Durcupan ACM. Las escisiones se evaluaron de manera cualitativa con base a las fotografías tomadas con un microscopio electrónico Hitachi 7100. Los resultados de estas pruebas se muestran en la tabla número 2.

55 Los resultados de las pruebas morfológicas se expresaron en una escala del 1 al 5, dependiendo del grado en el que el tratamiento con los compuestos probados restauró el daño endotelial provocado por la hipertensión, es decir, el grado de actividad regenerativa. En la escala, 1 representa los casos en los que no se observó regeneración, 2 significa débil, 3 significa medio, 4 significa bueno, mientras que 5 representa regeneración fuerte.

60 En comparación con el control sin tratar, se observó un efecto regenerativo o protector significativo después del tratamiento con los derivados de la hidroxilamina de fórmulas generales (I) y (II) de la invención. Debido al tratamiento, se formó una fina capa protectora sobre el subendotelio lesionado, la cual estaba compuesta de células que contienen un núcleo activo y un citoplasma rico. La regeneración pareció bastante eficaz en la mayoría de los casos.

65

TABLA 2

Revisión electromicroscópica de los efectos de los compuestos de la invención en la aorta torácica de ratas EH (prueba morfológica)

5		Dosis de sustancias	Grado de regeneración
		Control de EH (suero fisiológico)	1
10		Compuesto número 13, 20 mg/kg v.o.	5
		Compuesto número 5, 5 mg/kg v.o.	5
15		Compuesto número 4, 5 mg/kg v.o.	5
		Compuesto número 10, 10 mg/kg v.o.	4
		Compuesto número 1, 20 mg/kg v.o.	3
20		Compuesto número 11, 20 mg/kg v.o.	4
		Compuesto número 8, 5 mg/kg v.o.	3
25		Compuesto número 9, 5 mg/kg v.o.	3
		Compuesto número 12, 5 mg/kg v.o.	4
		Compuesto número 14, 20 mg/kg v.o.	3
30		Captoprilo, 100 mg/kg v.o.	3

Estos datos experimentales también apoyan la suposición de que los compuestos de fórmula general (I) y (II) pueden regenerar el endotelio no sólo funcionalmente sino también morfológicamente. Con el tratamiento crónico estos compuestos dieron como resultado una regeneración morfológica más pronunciada que la sustancia de referencia captoprilo.

Exploración del área infartada en ratas espontáneamente hipertensas (EH) después de un mes de tratamiento oral

Grupos experimentales

1. Control EH con edades correspondientes
2. Verapamilo (como fármaco de referencia), 50 mg/kg v.o.
3. Compuesto número 13, 20 mg/kg v.o.
4. Compuesto número 13, 50 mg/kg v.o.
5. Compuesto número 5, 5 mg/kg v.o.
6. Compuesto número 4, 5 mg/kg v.o.

Inducción de infarto

Se indujo la isquemia de miocardio por una oclusión temporal de la arteria coronaria izquierda principal, según Griswold et al. (J. Pharmacol. Methods 1988. 20: 225-35). Las ratas EH se anestesiaron con pentobarbital de sodio (50 mg/kg i.p.). Después de la traqueotomía, se ventilaron los animales con aire ambiente mediante un respirador para roedores pequeños (modelo: Harvard 552), con un volumen de golpe de 1,5 - 2 ml/100 g y una velocidad de 55 impulsos/minuto para mantener parámetros de pO₂, pCO₂ y pH normales. La arteria carótida derecha se cateterizó y se conectó con un transductor de presión (P236B Stetham) para la medición de la tensión arterial (TA) sistémica por medio de un preamplificador (Hg-O2D Experimetria[®]). La frecuencia cardíaca (FR) se midió mediante un cardiotacómetro (HR-01, Experimetria[®]). El electrocardiograma (derivación III habitual del ECG) se grabó con un dispositivo de grabación (ER- 14, Micromed[®]) por medio de electrodos de aguja de acero subcutánea. El pecho se abrió por medio de una toracotomía derecha y el corazón se extrajo por medio de una presión suave sobre la parte derecha de la caja torácica.

Se puso rápidamente una ligadura de seda 4/0 bajo la arteria coronaria izquierda principal. El corazón se reintrodujo en el pecho y el animal se dejó para que se recuperase.

La temperatura rectal se monitorizó y se mantuvo constante a 37°C.

El protocolo experimental se inició con un periodo de estabilización de 15 minutos durante el cual la observación de una tensión arterial continua de menos de 70 mmHg y/o la aparición de arritmias llevó a la exclusión.

La isquemia de miocardio se indujo con oclusión arterial coronaria durante 1 hora y se permitió la revascularización durante 1 hora. Los animales con operación fingida se sometieron a todos los procedimientos quirúrgicos descritos excepto la oclusión coronaria y la revascularización.

Cuantificación del infarto de miocardio

Al final del experimento, el corazón se extrajo rápidamente. El ventrículo izquierdo se laminó en secciones de 2 mm de espesor paralelas al canal atrioventricular. Las láminas se incubaron en una disolución al 0,1% de Nitroazul de de Tetrazolio de grado III, pH 7,4 durante 15 minutos. La zona no infartada se tiñó de azul debido a la formación de un precipitado que resulta de la reacción del NAT con enzimas deshidrogenasa. La pérdida de esas enzimas del miocardio infartado impide la formación del precipitado; por tanto, la zona infartada en la región de riesgo permanece amarilla pálido. Las secciones del ventrículo izquierdo VI se fotografiaron (Practica) y la zona infartada se midió por medio de planimetría. La zona necrótica se expresó como porcentaje de la superficie del ventrículo izquierdo.

Análisis estadístico

Todos los valores se expresarán como media $\pm$ EEM. Las comparaciones entre grupos se evaluarán mediante ANOVA de unilateral con análisis *post hoc* usando la prueba de la t de Student. La significancia estadística se definirá como $p < 0,05$.

Resultados

No hubo diferencia significativa en los parámetros hemodinámicos, ventrículo izquierdo y pesos corporales entre los grupos.

TABLA 3

El tamaño del infarto y la tasa de supervivencia de las ratas EH después de la oclusión arterial coronaria y revascularización

Grupos	Tamaño del infarto (%)	Tasa de supervivencia (%)
Control n=9	42,7 $\pm$ 1,37	28,13
Verapamilo 50 mg/kg n=8	24,3 $\pm$ 2,87**	53,3**
Compuesto número 13, 20 mg/kg, n=7	22,3 $\pm$ 3,6**, #	77,8**, #
Compuesto número 13, 50 mg/kg, n=5	15,2 $\pm$ 3,7**	60,0**
Compuesto número 5, 5 mg/kg, n=3	29,3 $\pm$ 2,9**	30,0
Compuesto número 4, 5 mg/kg, n=5	25,6 $\pm$ 4,0**	71,4**, #
** p < 0,01 frente a control # p < 0,01 frente a verapamilo		

Tras la oclusión arterial coronaria y la revascularización hubo una disminución marcada en la tasa de supervivencia de las ratas de control. La administración de diferentes principios activos (excepto el compuesto número 5) y la sustancia de referencia verapamilo por vía oral durante un mes aumentó de manera significativa la resistencia de las ratas a la lesión por isquemia de miocardio/revascularización.

Comparado con el verapamilo, la mejora fue significativamente superior después del tratamiento con el compuesto número 13 (20 mg/kg) y el compuesto número 4.

Los principios activos y el verapamilo redujeron de manera significativa el tamaño del infarto comparado con los animales de control. La restricción del tamaño del infarto fue dependiente de la dosis. La dosis mayor redujo de manera significativa la extensión de la necrosis de miocardio comparado con el verapamilo.

ES 2 267 148 T3

Los experimentos indican que los principios activos seleccionados reducen de manera significativa la extensión de la necrosis de miocardio y mejoran de manera significativa la tasa de supervivencia. La restricción del tamaño del infarto se produjo sin ningún cambio marcado en los parámetros hemodinámicos, y fue significativamente mayor después del tratamiento con los compuestos de la invención que tras la administración de la sustancia de referencia verapamilo.

Ensayo de migración hacia la incisión

Se aislaron células endoteliales de vena umbilical humana ("human umbilical vein endothelial cells" HUVEC) y se cultivaron según Jaffe E. A. *et al.* (J. Clin. Invest., 52, 2745-2756, 1973). El ensayo se llevó a cabo como se describe por Yamamura S. *et al.* (J. Surg. Res., 63, 349-354, 1996). Las células HUVEC se sembraron en placas de 96 pocillos, previamente recubiertas con fibronectina (2 µg/pocillo) (Sigma), y con una confluencia de aproximadamente el 90% se hizo una incisión en la monocapa a lo largo de un eje de coordenadas marcado en la parte posterior de la placa. La lesión de la capa se hizo con un rascador de células de Teflón de 1 mm de anchura. Los pocillos se lavaron y se rellenaron con medio RPMI 1640 completado (que contiene un 5% de proteínas) para incubación (a 37°C en aire que contiene un 5% de CO₂). Se dejaron migrar las células durante 24 y 48 horas en la zona de la incisión y se tomaron videos o fotografías mediante un microscopio invertido (aumento de 60X) para la grabación. El número de células que se movieron más allá de la línea de referencia se contó y evaluó mediante un analizador de imagen.

Tratamiento con el compuesto de prueba

Se preparó una disolución en diez veces en serie en medio y se añadieron 5 µl/pocillo que contenía 95 µl de cultivo de tejido sobre la monocapa celular con la incisión. El cultivo de control no contiene disolución del compuesto número 13.

Resultados

Después de 24 horas de incubación las células aparecieron espontáneamente en la zona de la incisión e incluso se contó un número superior en presencia del compuesto de prueba a una concentración submicromolar (a 10⁻⁷ y 10⁻⁸ M). El compuesto de prueba dio como resultado un ascenso considerable y enfático en la migración celular incluso en un periodo de 48 horas. La zona de la incisión se cubrió aproximadamente en un 82% comparado con el 47% con las células endoteliales humanas que migraron espontáneamente.

TABLA 4

Resultados de la prueba de migración hacia la incisión con el compuesto número 13

Dosis 10 ^{-x} (M)	La zona cubierta			
	Células/mm ²		% /mm ²	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
7	689	1009	56	82
8	750	948	61	80
No tratado*	480	578	39	47
Células adheridas**	180		6	
* Control no tratado, migración espontánea, ** Células en la superficie de la incisión inmediatamente después de comenzar la incisión, situación de control.				

El proceso de reparación de la monocapa vascular dañada comienza con la migración de células endoteliales, además de esta forma puede empezarse la reconstrucción de la zona de incisión. Todos los datos sugieren que el compuesto de prueba puede promover la reparación en las células endoteliales humanas de la incisión con la intensificación directa de la migración.

La invención se ilustra en los siguientes ejemplos sin ninguna limitación en el alcance reivindicado.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas**Ejemplo 1**

- 5 *(Z)-2-butenodiato de N-[2-benzoiloxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida (1:1) (compuesto número 1)*

Procedimiento

- 10 Se disolvieron 20,9 g (75,0 mmol) de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida [patente húngara 177.578 (1976)] en 300 ml de benceno. Se añadieron 150 ml de hidróxido de sodio 1 N a esta disolución, seguido de la adición gota a gota de 19,5 ml (168 mmol) de cloruro de benzoilo. Después de agitar la mezcla de manera intensa durante 2 horas, se añadieron 7,1 g (67 mmol) de carbonato de sodio y otra parte de cloruro de benzoilo (9,75 ml; 84 mmol), y se continuó la agitación durante la noche. Entonces las fases se separaron, la fase orgánica se extrajo
15 con una disolución de hidróxido de sodio 1 N y agua, se secó y se evaporó hasta la sequedad. El residuo (41 g de aceite) se disolvió en 150 ml de acetona, y se añadieron 8,7 g (75 mmol) de ácido maleico. El precipitado obtenido extrajo por filtración, se lavó con acetona, y se secó.

Rendimiento: 29,0 g (78%)

- 20 P.F.: 194-195°C

Ejemplo 2

- 25 *Monoclorhidrato de N-[2-palmitoiloxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida (compuesto número 2)*

Procedimiento

- 30 Se disolvieron 14,7 g (52,8 mmol) de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida [patente húngara 177.578 (1976)] en 160 ml de cloroformo. Se añadieron 7,7 ml (55 mmol) de trietilamina, seguido de la adición gota a gota de una disolución de cloruro de palmitoilo (14,7 g; 56,5 mmol) en 85 ml de cloroformo. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente se añadió otra cantidad de 3,8 ml de trietilamina y 7,4 g de cloruro de palmitoilo, y la agitación continuó un día más. Entonces se extrajo la disolución
35 con agua, ácido acético al 5% y agua, sucesivamente, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se evaporó hasta la sequedad.

- El residuo (28,2 g de aceite) se disolvió en acetato de etilo, y el producto se precipitó mediante la adición de 30 ml de HCl 1 N / acetato de etilo. El precipitado blanco espeso se extrajo por filtración, se lavó con acetato de etilo y se
40 secó.

Rendimiento: 10.9 g (37%)

- 45 P.F.: 110-113°C

Ejemplo 3

- 50 *Monoclorhidrato de cloruro de N-[3-[(1,1-dimetiletil)amino]-2-hidroxipropoxi]-3-trifluorometilbencenocarboximidóilo (compuesto número 3)*

*Procedimiento**Etapas a)*

- 55 Se disolvieron 50 g (0,245 mol) de m-trifluorometilbenzamidoxima y 33,7 g (0,6 mol) de hidróxido de potasio en una mezcla de dimetilsulfóxido y 170 ml de agua, y la mezcla se enfrió hasta 0°C. Se añadieron 48 ml (0,6 mol) de epíclorhidrina, y se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 5 horas, guardándola entonces en el frigorífico durante la noche. Al día siguiente se añadieron 250 ml de agua, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (4 x 250 ml). Las
60 fases orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron, se trataron con carbón y se evaporaron hasta la sequedad, para obtener m-trifluorometil-N-(2,3-epoxipropoxi)-benzamidina, como un aceite incoloro.

Rendimiento: 61 g (96%)

- 65

ES 2 267 148 T3

Etapa b)

Al aceite obtenido se le añadieron 400 ml de ácido clorhídrico al 18% y 60 ml de éter, y la mezcla se enfrió hasta -5°C, mientras se agitaba. Se añadieron lentamente durante 40 minutos 17,4 g (0,25 mol) de nitrito de sodio disueltos en 60 ml de agua, y la mezcla de reacción se agitó durante otros 20 minutos. Entonces la mezcla se extrajo con éter (2 x 160 ml), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua dos veces. A la disolución con éter se la añadieron 340 ml de hidróxido de sodio al 20%, y el sistema de bifásico se sometió a reflujo durante 1 hora, mientras se agitaba. Entonces las fases se separaron, la fase orgánica se lavó con salmuera hasta la neutralización, se secó y se evaporó hasta la sequedad para dar cloruro de m-trifluorometil-N-(2,3-epoxipropoxi)-benzimidóilo, como un aceite incoloro.

Rendimiento: 30,5 g (45%)

Etapa c)

Se sometió a reflujo una mezcla de 1,19 g (4,2 mmol) de cloruro de N-[(2,3-epoxi)propoxi]-3-trifluorometilbenzenocarboximidoilo y 0,89 ml (8,5 mmol) de terc-butilamina en 12 ml de alcohol isopropílico durante 2 horas. El disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo, y se añadieron 0,89 ml de disolución metanólica de cloruro de hidrógeno (4,3 N) y la mezcla se concentró a vacío hasta un volumen pequeño, luego se diluyó con éter. El precipitado que se formó se recuperó, se lavó con éter frío y se secó.

Rendimiento: 0,48 g (32%)

P.F.: 150-153°C

IR (KBr): 3423, 3233, 2978, 2880, 2784, 1620, 1570, 1479, 1441, 1400, 1383, 1340, 1238, 1167, 1128, 1101, 1072, 1038, 982, 930, 897, 804, 787, 714, 694 cm⁻¹

Ejemplo 4

Monoclorhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-tiofenocarboximidoilo (compuesto número 4)

Procedimiento

Se disolvieron 5,0 g (15,6 mmol) monoclorhidrato de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-tiofenocarboximidamida en 19 ml de agua, entonces se añadieron 6,1 ml de ácido clorhídrico concentrado. La disolución se enfrió hasta -5°C, entonces se añadió gota a gota una disolución fría de 4,4 g (63,8 mmol) de nitrito de sodio en 2,4 ml de agua. Durante toda la reacción la temperatura interna se mantuvo a 0°C. Cuando se completó la adición la mezcla se agitó durante otra hora. Se añadió benceno frío (60 ml) y la mezcla se convirtió en alcalina mediante la adición lenta de una disolución fría de 3,2 g (80 mmol) de hidróxido de sodio en 45 ml de agua. La fase orgánica se separó y se lavó sucesivamente con partes de 20 ml de agua hasta un pH < 9 (3-5 veces). La disolución orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se trató con carbón, se filtró y se evaporó a vacío (T < 45°C) para dar 2,6 g de aceite. Este residuo se disolvió en 5 ml de alcohol isopropílico y se acidificó (pH 2) con alcohol isopropílico que contenía ácido clorhídrico anhidro. El producto se cristalizó en n-hexano para dar material color crema.

Rendimiento: 2,0 g (38%)

P.F.: 115-123°C

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo anterior se prepararon los siguientes compuestos:

Ejemplo 5

Monoclorhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-benzenocarboximidoilo (compuesto número 5)

Material de partida: N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-benzenocarboximidamida

Rendimiento: 23%

P.F.: 140-145°C

ES 2 267 148 T3

Ejemplo 6

(Z)-2-butenodiato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-4-piridincaboximidoílo (1:1) (compuesto número 6)

Material de partida: N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-4-piridincaboximidamida. En este caso el producto final se aisló al final del procedimiento de tratamiento final disolviendo la base en bruto en acetona, y añadiendo una cantidad equivalente de ácido maleico.

Rendimiento: 25%

P.F.: 150-154°C

Ejemplo 7

Monoclorhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-nitrobenzenocaboximidoílo (compuesto número 7)

Material de partida: N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-nitrobenzenocaboximidamida

Rendimiento: 36%

P.F.: 158-162°C

Ejemplo 8

Diclorhidrato de cloruro de N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincaboximidoílo (compuesto número 8)

Material de partida: N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincaboximidamida

Rendimiento: 33%

P.F.: 178-182°C

Ejemplo 9

Monoclorhidrato de cloruro de N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-nitrobenzenocaboximidoílo (compuesto número 9)

Material de partida: N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-nitrobenzenocaboximidamida

Rendimiento: 49%

P.F.: 173-175°C

Ejemplo 10

N-[3-[(1,1-dimetiletil)amino]-2-hidroxipropoxi]-3-trifluorometil-benzamida (compuesto número 10)

Procedimiento

Se añadieron 1,3 ml (15,2 mmol) de epiclorhidrina a una disolución de 1,6 ml (15,2 mmol) de terc-butilamina en 8 ml de etanol durante 10 minutos con agitación, manteniendo la temperatura por debajo de 20°C, y se dejó en reposo durante 3 días. De forma separada, se disolvieron 0,8 g (14,3 mmol) de hidróxido de potasio en una mezcla de 20 ml de etanol y 3 ml de agua y a esta disolución se le añadieron 3,42 g (15,2 mmol) de sal de potasio de N-hidroxi-3-(trifluorometil)-benzamida y la disolución preparada anteriormente de epiclorhidrina y terc-butilamina. La mezcla de reacción se agitó y se llevó a ebullición durante 10 horas, entonces el disolvente se evaporó. El residuo se trituró con 20 ml de diclorometano y 10 ml de agua, la fase orgánica se separó, se lavó con agua y disolución saturada de cloruro de sodio, se secó con sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El residuo aceitoso se cristalizó en una mezcla de acetona-hexano para dar polvo blanco como el compuesto del enunciado.

Rendimiento: 0,85 g (17,3%)

P.F.: 156-158°C

IR (KBr): 2976, 2858, 1612, 1556, 1379, 1352, 1313, 1273, 1165, 1130, 1072, 694 cm⁻¹

Ejemplo 11

*N-hexil-N'-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-urea (compuesto número 11)**Procedimiento*

Se añadieron 4,9 ml (45,9 mmol) de isocianato de hexilo a la disolución de 8,0 g (45,9 mmol) de 1-aminooxi-2-hidroxi-3-(1-piperidinil)-propano disueltos en 60 ml de cloroformo y la mezcla de reacción se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. Después de la adición de 1,6 ml (15 mmol) de isocianato de hexilo adicionales, se continuó la agitación durante dos horas más, en las que el disolvente se evaporó a vacío. Se obtuvo un producto cristalino blanco mediante la trituración con éter de petróleo.

Rendimiento: 9,9 g (72%)

P.F.: 50-52°C

IR (KBr): 3310, 2932, 2858, 2804, 1666, 1551, 1434, 1377, 1306, 1092, 1040, 995, 791, 725, 604 cm⁻¹

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo anterior se prepararon los siguientes compuestos:

Ejemplo 12

N-hexil-N'-[3-(1-piperidinil)propoxi]-urea (compuesto número 12)

Material de partida: 1-aminooxi-3-(1-piperidinil)-propano

Rendimiento: 85% (aceite)

IR (KBr): 3354, 2932, 2856, 2810, 2777, 1666, 1513, 1486, 1377, 1308, 1155, 1134, 1076 cm⁻¹

Ejemplo 13

*5,6-Dihidro-5-(1-piperidinil)metil-3-(3-piridil)-4H-1,2,4-oxadiazina**Procedimiento*

Etapa a)

Se disolvieron 17 g (0,05 mol) de diclorhidrato de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincaboximidamida en 50 ml de cloruro de tionilo, se sometieron a ebullición durante una hora, entonces la mezcla se evaporó hasta la sequedad. El residuo se disolvió en 300 ml de metanol, se trató con carbón y después de la filtración el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en la mínima cantidad de etanol y se enfrió para dar diclorhidrato de N-[2-cloro-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincaboximidamida cristalino como compuesto intermedio.

Rendimiento: 13,2 g (71%)

P.F.: 127-145°C

Etapa b)

Se añadieron 13,2 g (35,7 mmol) de diclorhidrato de N-[2-cloro-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincaboximidamida a una disolución de 16,5 g (143,5 mmol) de terc-butoxido de potasio disueltos en 150 ml de terc-butanol. La mezcla se llevó a ebullición durante 6 horas, entonces se evaporó a vacío. Se añadieron 100 ml de disolución de hidróxido de sodio al 5% y la mezcla se extrajo tres veces con partes de 300 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró y se evaporó hasta la sequedad. El residuo se trituró con dietil éter para dar el compuesto del enunciado como cristales blancos.

Rendimiento: 3,5 g (38%)

P.F.: 157,5-158°C

Ejemplo 14

Comprimidos

- 5 Para la producción de comprimidos de 200 mg que contienen 50 mg de sustancia activa se usan:
- 50 mg de monoclóridato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-bencenocarboximidoílo
- 129 mg de celulosa microcristalina (por ejemplo "Avicel ph 102")
- 10 20 mg de polivinilpirrolidona (por ejemplo "Polyplasdone XL")
- 1 mg de estearato de magnesio

15 Ejemplo 15

Cápsulas

- 20 Para cápsulas de 300 mg se usan:
- 50 mg de monoclóridato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-nitrobencenocarboximidoílo
- 25 10 mg de cera de abeja amarilla
- 10 mg de aceite de semilla de soja
- 130 mg de aceite vegetal
- 30 100 mg de célula de encapsulamiento

Ejemplo 16

35 *Disolución*

 Para una disolución de 100 ml se usan:

- 40 500 mg de monoclóridato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-tiofenocarboximidoílo
- 10 g de sorbitol
- 0,05 g de sacarina de sodio y
- 45 100 ml de agua destilada dos veces.

Ejemplo 17

50 *Vial para inyección*

 Para cada vial para inyección de 2 ml que contiene 2 mg de sustancia eficaz se usan:

- 55 2 mg de 5,6-Dihidro-5-(1-piperidinil)metil-3-(3-piridil)-4H-1,2,4-oxadiazina y
- 2,0 ml de solución salina fisiológica, libre de pirógenos, estéril.

60 Ejemplo 18

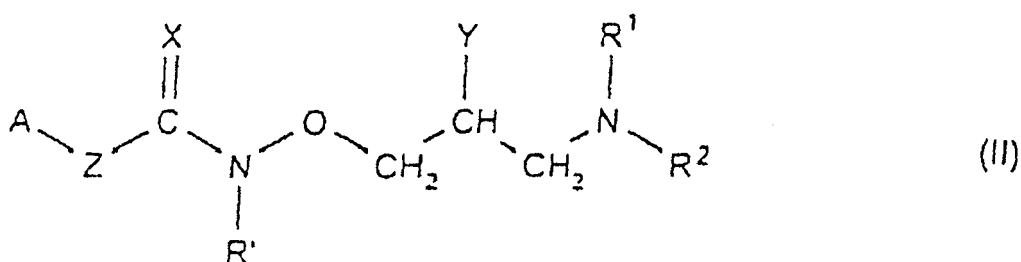
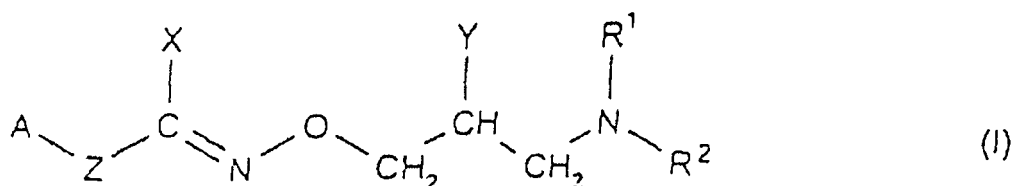
Disolución para infusión

 Para una disolución para infusión de 500 ml se usan:

- 65 20 mg de N-hexil-N'-[3-(1-piperidinil)propoxi]-urea y
- 500 ml de solución salina fisiológica, libre de pirógenos, estéril.

REIVINDICACIONES

1. Uso de los derivados de la hidroxilamina de fórmulas generales (I) y (II)



en las que

R^1 y R^2 se refiere de manera independiente a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno intermedio forman un grupo heterocíclico de 5 - 7 miembros saturado, que contiene opcionalmente otros heteroátomos de nitrógeno y/u oxígeno,

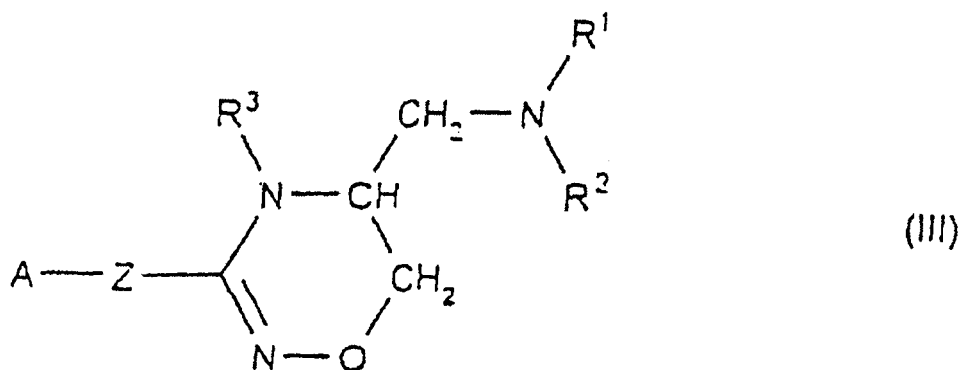
A se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado de 4 a 12 átomos de carbono, un grupo fenilo, sustituido o no sustituido, que contiene opcionalmente un grupo alquilo, haloalquilo o nitro como sustituyente, o un anillo heteroaromático de 5 - 6 miembros que contiene nitrógeno, oxígeno o azufre,

en la fórmula general (I), Z se refiere a un enlace covalente, y en la fórmula general (II) a un enlace covalente o a un grupo =NH,

en la fórmula general (I), X se refiere a un átomo de halógeno o a un grupo $-\text{NR}^3\text{R}^4$, en el que R^3 y R^4 se refieren de manera independiente a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, mientras que en la fórmula general (II) X se refiere a un átomo de oxígeno, en la fórmula general (II), R^1 se refiere a un átomo de hidrógeno o a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 6 átomos de carbono, y

en las fórmulas generales (I) y (II), Y se refiere a un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo o un grupo aciloxilo, que contiene la parte acilo de un ácido graso de cadena larga de 8 a 22 átomos de carbono, o de un ácido carboxílico aromático como su componente de acilo,

o en los compuestos de fórmula general (I) en los que X se refiere a un grupo $-\text{NR}^3\text{R}^4$ e Y se refiere a un grupo hidroxilo, el grupo X está condensado con el sustituyente Y para formar el anillo intramolecular representado por la fórmula general (III),



fórmula en la que A, Z, R^1 y R^2 tienen los mismos significados que anteriormente,

y las sales y formas ópticamente activas de esos compuestos en la preparación de medicamentos que van a utilizarse en el tratamiento o prevención de enfermedades que resultan del daño de las células endoteliales vasculares, seleccionadas del grupo que consiste en hiperhomocistinemia y reestenosis debido a la cateterización y cirugía de derivación coronaria.

5

2. Uso de (Z)-2-butenodiato de N-[2-benzoiloxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida (1:1) como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

10

3. Uso de monoclórhidrato de N-[2-palmitoiloxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidamida como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

4. Uso de monoclórhidrato de cloruro de N-[3-[(1,1-dimetiletil)amino]-2-hidroxipropoxi]-3-trifluorometilbencenocarboximidoilo como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

15

5. Uso de monoclórhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-tiofenocarboximidoilo como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

20

6. Uso de monoclórhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-bencenocarboximidoilo como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

7. Uso de (Z)-2-butenodiato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-4-piridincarboximidoilo como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

25

8. Uso de monoclórhidrato de cloruro de N-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-2-nitrobencenocarboximidoilo como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

9. Uso de diclorhidrato de cloruro de N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-piridincarboximidoilo como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

30

10. Uso de monoclórhidrato de cloruro de N-[3-(1-piperidinil)propoxi]-3-nitrobencenocarboximidoilo como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

11. Uso de N-[3-[(1,1-dimetiletil)amino]-2-hidroxipropoxi]-3-trifluorometil-benzamida como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

35

12. Uso de N-hexil-N'-[2-hidroxi-3-(1-piperidinil)propoxi]-urea como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

40

13. Uso de N-hexil-N'-[3-(1-piperidinil)propoxi]-urea como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

14. Uso de 5,6-dihidro-5-(1-piperidinil)metil-3-(3-piridil)-4H-1,2,4-oxadiazina como principio activo en el procedimiento según la reivindicación 1.

45

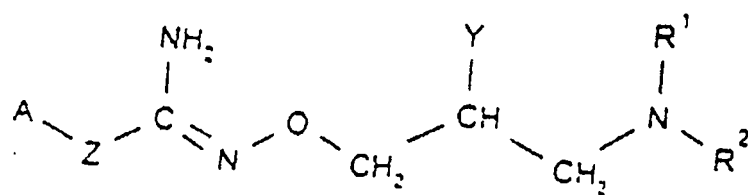
50

55

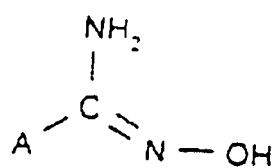
60

65

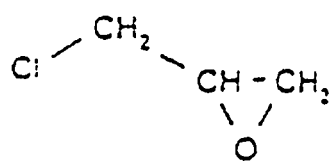
$$\begin{array}{c} \text{X} \\ | \\ \text{A}-\text{Z}-\text{C}=\text{N}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{R}^2 \\ | \quad | \\ \text{Y} \quad \text{R}^1 \end{array} \quad (I)$$



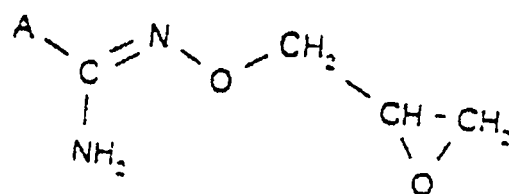
(IV)



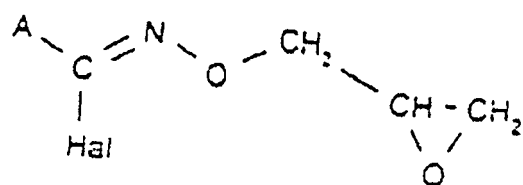
(V)



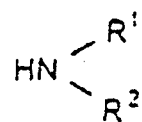
(VI)



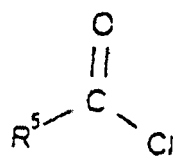
(VII)



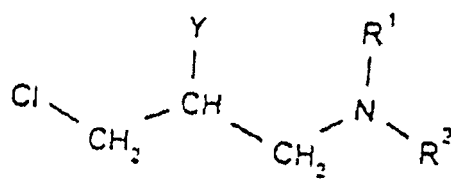
(VIII)



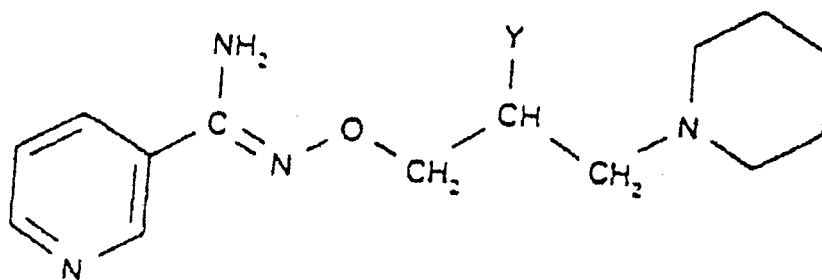
(IX)



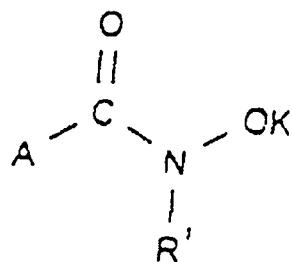
(XI)



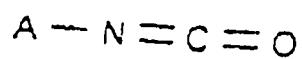
(XII)



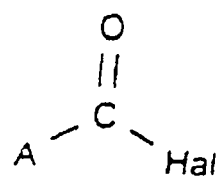
(X)



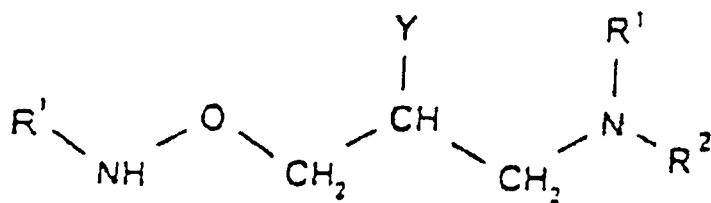
(XIII)



(XV)



(XVI)



(XIV)