



DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social **AKZO NOBEL N.V.** ✓

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

Holanda ✓

Departamento o Estado

Dirección

Velperweg 76 ✓

Ciudad

6824 BM Arnhem

Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

EMILIO FERRERO ✓

Dirección y Domicilio

Carrera 4 No. 72-35

Ciudad

Bogotá. Colombia.

Teléfono: 3-47-36-11

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

1- Mingqiang ZHANG 2- Ronald PALIN ✓
3- David Jonatham BENNET

Identificación

1- 60 Academy Street, ML5 3AZ Coatbridge, Gran Bretaña.

Dirección

2- 94A/Kinsale, Main Street, Near Kilsyth, Scotland, G65 0QN Banton, Gran Bretaña.
3- 25 Oswald Road, The Grange, Scotland, EH9 2HJ Edinburgh, Gran Bretaña. ✓

Ciudad

Teléfono.

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención **DERIVADOS DE 6-MERCAPTO-CICLODEXTRINA USADOS
COMO AGENTES DE REVERSIÓN PARA EL BLOQUEO
NEUROMUSCULAR INDUCIDO POR FÁRMACOS** ✓

PRIORIDAD REIVINDICADA SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD ANDINA ☐ UNIONISTA ☒

(33) País

(32) Fecha

(31) No. Solicitud

EP.
Convención de París

29 de Noviembre de 1999 ✓

99309558.7

Para Publicar a los ☐ 6 meses ☐ 12 meses ☒ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

Colo: 11214-801-019-5 JJC/mrm-ID.105

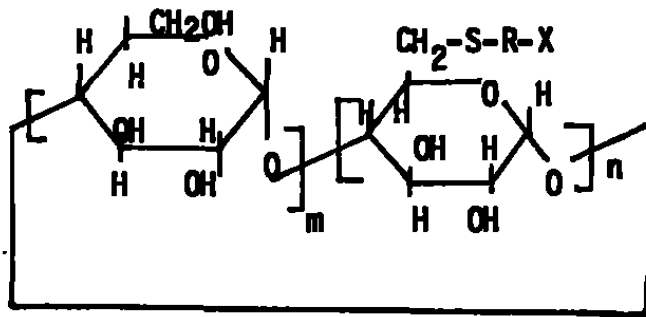
(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 31/715/31/095

23 NOV. 2000

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

La presente invención describe un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina que tiene la fórmula general I:



Fórmula I

Donde m es 0-7, n es 1-8, $m + n = 7$ u 8; R es (C_{1-8}) -alquileno, opcionalmente sustituido con 1-3 grupos OH, 6 $(CH_2)_2$ -fenileno- $(CH_2)_2$; o, p son independientemente 0 - 4; X es COOH, CONHR₁, NHCOR₂, SO₃OH, PO(OH)₂, O(CH₂-CH₂-O)_q-H, OH, o tetrazol-5-ilo, R₁ es H ó (C_{1-8}) alquilo; R₂ es carboxifenilo; q es 1-3; o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

El derivado de 6-mercapto-ciclodextrina es muy adecuado para ser usado en la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica	☒
Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC	☒
Recibo de la tasa respectiva <i>por v/r de \$608.000 =</i>	☒
Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación	☐
Si se reivindica prioridad Andina:	
Copia de la primera solicitud	☐
Traducción oficial	☐
Si se reivindica prioridad Unionista:	
Copia certificada de la primera solicitud:	☐
Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior	
Traducción simple	☐
Capítulo descriptivo	☒
Dibujos, planos necesarios	☐
Capítulo reivindicatorio	☒
Tarjeta archivo propietarios según formato	☒
Tarjeta archivo temático según formato	☒
Extracto para publicación según formato	☒
Arte final 12 x 12 cms Y 6x6 cms	☒
Otros Documentos	☐

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

Emilio Ferrero

NOMBRE

EMILIO FERRERO

CC.

438.019 de Usaquén

T.P.No.

31.929

VCR

**DERIVADOS DE 6-MERCAPTO-CICLODEXTRINA USADOS COMO
AGENTES DE REVERSIÓN PARA EL BLOQUEO NEUROMUSCULAR
INDUCIDO POR FÁRMACOS.**

MEMORIA DESCRIPTIVA

La invención se refiere a derivados de 6-mercaptopiridina, a su uso en la preparación de un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos, y a un kit para proporcionar bloqueo neuromuscular y su reversión.

Un agente bloqueador neuromuscular (NMBAs, también llamado "relajante muscular") se usa rutinariamente durante la administración de la anestesia para facilitar la intubación endotraqueal, y para permitir el acceso quirúrgico a las cavidades del cuerpo, en particular el abdomen y el tórax, sin obstrucciones por el movimiento muscular voluntario o reflejo. Los NMBAs también se usan en el cuidado de pacientes críticamente enfermos sometidos a terapia intensiva, para facilitar el acatamiento de la ventilación mecánica cuando la sedación y la analgesia solas han resultado inadecuadas, y para impedir los violentos movimientos musculares asociados con el tratamiento de terapia electroconvulsiva.

En base a sus mecanismos de acción, los NMBAs se dividen en dos categorías: despolarizantes y no despolarizantes. Los agentes bloqueadores neuromusculares despolarizantes se unen a los receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs) en la unión neuromuscular, de una manera similar al neurotransmisor endógeno acetilcolina. Estimulan una apertura inicial del canal iónico, produciendo contracciones conocidas como fasciculaciones. Sin embargo, debido a que estos fármacos son descompuestos sólo en forma

relativamente lenta por las enzimas colinesterasas, en comparación con la muy rápida hidrólisis de la acetilcolina por las acetilcolinesterasas, quedan unidos por un período mucho más largo que la acetilcolina, causando una persistente despolarización de la placa del extremo y, por lo tanto, un bloqueo neuromuscular. La succinilcolina (suxametonio) es el ejemplo más conocido de NMBA despolarizante.

Los agentes bloqueadores neuromusculares no despolarizantes compiten con la acetilcolina para unirse a los nAChRs del músculo pero, a diferencia de los NMBAs despolarizantes, no activan el canal. Bloquean la activación del canal por acetilcolina y así impiden la despolarización de la membrana celular y, como resultado, el músculo se vuelve flácido. La mayoría de los NMBAs clínicamente usados pertenecen a la categoría no despolarizante. Estos incluyen tubocurarina, atracurio, (cis)atracurio, mivacurio, pancuronio, vecuronio, rocuronio y rapacuronio (Org 9487).

Al final de una cirugía o de un período de cuidado intensivo, frecuentemente se administra al paciente un agente de reversión de los NMBAs para ayudar a la recuperación de la función muscular. Los agentes de reversión más comúnmente usados son inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE), tales como neostigmina, edrofonio y piridostigmina. Debido a que el mecanismo de acción de estos fármacos es aumentar el nivel de acetilcolina en la unión neuromuscular inhibiendo la descomposición de la acetilcolina, no son adecuados para la reversión de los NMBAs despolarizantes tal como la succinilcolina. El uso de inhibidores de AChE como agentes de reversión lleva a problemas con la selectividad, debido a que

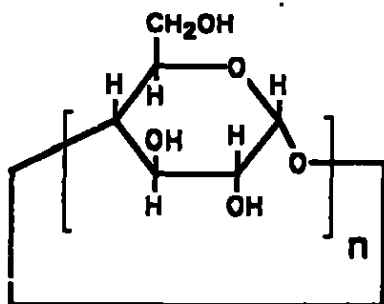
la neurotransmisión a todas las sinapsis (tanto somáticas como autónomas) que involucran al neurotransmisor acetilcolina, es potenciada por estos agentes. Esta falta de selectividad puede llevar a muchos efectos secundarios debido a la activación no selectiva de los receptores de acetilcolina muscarínicos y nicotínicos, incluyendo bradicardia, hipotensión, salivación aumentada, náusea, vómitos, calambres abdominales, diarrea y broncoconstricción. Por lo tanto en la práctica, estos agentes pueden usarse solamente después de o junto con la administración de atropina (o glicopirrolato), para antagonizar los efectos muscarínicos de la acetilcolina en los receptores muscarínicos en las uniones de neuroefectores parasimpáticos autónomos (por ejemplo el corazón). El uso de un antagonista de receptor de acetilcolina muscarínico (mAChR), tal como atropina, causa un número de efectos secundarios, por ejemplo taquicardia, boca seca, visión borrosa, dificultades para vaciar la vejiga y además puede afectar la conducción cardíaca.

Otro problema con los agentes anticolinesterasas es que debe haber presente una actividad neuromuscular residual (>10% de actividad de espasmos) para permitir la rápida recuperación de la función neuromuscular. Ocasionalmente, ya sea debido a hipersensibilidad del paciente o sobredosis accidental, la administración de NMBAs puede causar un bloqueo completo y prolongado de la función neuromuscular ("bloqueo profundo"). Actualmente, no hay un tratamiento confiable para revertir este "bloqueo profundo". Los intentos por superar un "bloqueo profundo" con altas dosis de inhibidores de AChE tienen el riesgo de inducir una "crisis colinérgica", que da

como resultado una amplia gama de síntomas relacionados con la estimulación aumentada de los receptores muscarínicos y nicotínicos.

En la solicitud de patente europea 99.306.411 (AKZO NOBEL N.V.), se divulga el uso de quelantes (o secuestrantes) químicos como agentes de reversión. Se describen quelantes químicos capaces de formar un complejo de asociado ("guest")-huésped para la fabricación de un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos. El uso de quelantes químicos como agentes de reversión para NMBAs tiene la ventaja de que son eficaces para revertir la acción de los NMBAs tanto despolarizantes como no despolarizantes. Su uso no aumenta el nivel de acetilcolina y, por lo tanto, producen menos efectos secundarios y ninguno asociado con la estimulación de los receptores muscarínicos y nicotínicos que se observa con los agentes de reversión para AChE. Además, no hay necesidad del uso combinado de un inhibidor de AChE y un antagonista de mAChR (por ejemplo, atropina), en tanto que los quelantes químicos pueden además ser empleados en forma segura para la reversión del "bloqueo profundo". Ejemplos de estos quelantes químicos, descritos en la patente europea EP 99.306.411, fueron seleccionadas entre diversas clases de compuestos orgánicos, en su mayoría cíclicos, que son conocidos por su capacidad para formar complejos de inclusión con diversos compuestos orgánicos en solución acuosa, por ejemplo oligosacáridos cíclicos, ciclofanos, péptidos cíclicos, calixarenos, éteres coronados y éteres aza coronados.

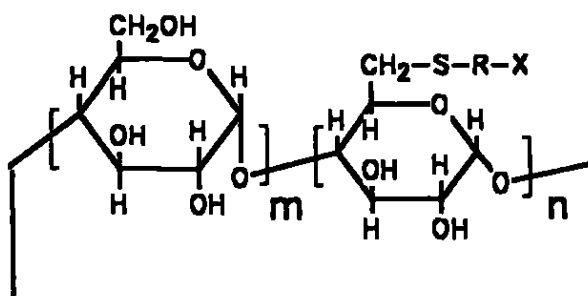
Las ciclodextrinas,



$$n = 6 - 9$$

una clase de moléculas cíclicas que contienen seis o más unidades de α -D-glucopiranosas unidas en las posiciones 1,4 por enlaces α como en la amilosa, y sus derivados, fueron identificadas en la patente EP 99.306.411 como particularmente útiles en la reversión de muchos de los agentes bloqueadores neuromusculares o relajantes musculares comúnmente usados, tales como rocuronio, pancuronio, vecuronio, rapacuronio, mivacurio, atracurio, (cis)atracurio, succinilcolina y tubocurarina.

Se ha encontrado ahora que los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina que tienen la fórmula general I:



Fórmula I

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8;

R es (C₁₋₆)alquileo, opcionalmente sustituido con 1-3 grupos OH, ó (CH₂)_o-fenileno-(CH₂)_p-;
o, p son independientemente 0-4;
X es COOH, CONHR₁, NHCOR₂, SO₂OH, PO(OH)₂, O(CH₂-CH₂-O)_q-H, OH, o tetrazol-5-ilo;
R₁ es H ó (C₁₋₃)alquilo;
R₂ es carboxifenilo;
q es 1-3;
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos;
son altamente activos in vivo en la reversión de la acción de los agentes bloqueadores neuromusculares.

No se busca protección per se para los siguientes derivados de 6-mercapto-ciclodextrina:

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)-β-ciclodextrina y
6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)-γ-ciclodextrina, que están descritos por Ling, C. y Darcy, R. (J. Chem. Soc. Chem Comm. 1993, (2), 203-205);

6-mono-deoxi-6-mono-(2-hidroxietiltio)-β-ciclodextrina, que está descrito por Fujita, K. y colaboradores (Tetr. Letters 21, 1541-1544, 1980);

6-per-deoxi-6-per-(carboximetiltio)-β-ciclodextrina, que está descrito por Guillo, F. y colaboradores (Bull. Chem. Soc. Chim. Fr. 132 (8), 857-866, 1995);

6-mono-deoxi-6-mono-(carboximetiltio)-β-ciclodextrina, que está descrito por Akiie, T. y colaboradores (Chem. Lett. 1994 (6), 1089-1092);

6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis[(o-carboxifenil)tio]-β-ciclodextrina y

6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis(carboximetiltio)- β -ciclodextrina, que están descritos por Tubashi, I. y colaboradores (J. Am. Chem. Soc. 108, 4514-4518, 1986; y

6-per-deoxi-6-per-(2,3-dihidroxi-propiltio)- β -ciclodextrina, que está descrito por Baer, H. H. y Santoyo-González, F. (Carb. Res. 280, 315-321, 1996).

Estos derivados de 6-mercapto-ciclodextrina del arte previo han sido descritos en relación con diferentes utilidades en cada caso.

Sin embargo, los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina del arte previo mencionados más arriba sí pertenecen al aspecto principal de la presente invención, que se refiere al uso de un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I, para la fabricación de un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

En una modalidad, la invención se refiere a derivados de 6-mercapto-ciclodextrina que tienen la fórmula general I,

donde m es 0-7, n es 1-8, m+n = 7 u 8;

X es COOH, OH ó CONHCH₃;

R es (C₁₋₆)alquileo, ó (CH₂)_o-fenileno-(CH₂)_p-;

o, p son independientemente 0-4;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

con la exclusión de

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxi-etiltio)- β -ciclodextrina;

6-mono-deoxi-6-mono-(2-hidroxi-etiltio)- β -ciclodextrina;

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxi-etiltio)- γ -ciclodextrina;

6-per-deoxi-6-per-(carboximetiltio)- β -ciclodextrina;

6-mono-deoxi-6-mono-(carboximetiltio)- β -ciclodextrina;
6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis[(o-carboxifenil)tio]- β -ciclodextrina;
y
6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis(carboximetiltiol)- β -ciclodextrina.

El término (C₁₋₆)alquileo, como se usa en la definición de la fórmula I, significa un radical carbonado bivalente de cadena lineal o ramificada que contiene 1-6 átomos de carbono, tal como metileno, etileno (1,2-etanodiilo), propileno (1-metil-1,2-etanodiilo), 2-metil-1,2-etanodiilo, 2,2-dimetil-1,2-etanodiilo, 1,3-propanodiilo, 1,4-butanodiilo, 1,5-pentanodiilo y 1,6-hexanodiilo.

El término fenileno significa una porción bivalente cuyas valencias libres pueden estar colocadas, una con respecto a la otra, en posición orto, meta o para.

El término (C₁₋₃)alquilo significa un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene 1-3 átomos de carbono, o sea metilo, etilo, propilo e isopropilo.

El término carboxifenilo significa un grupo fenilo que está sustituido ya sea en la posición orto, meta o para con un grupo carboxi. El grupo orto-carboxifenilo es preferido.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula I donde n+m es 7 son derivados de β -ciclodextrina, aquéllos donde n+m es 8 son derivados de γ -ciclodextrina.

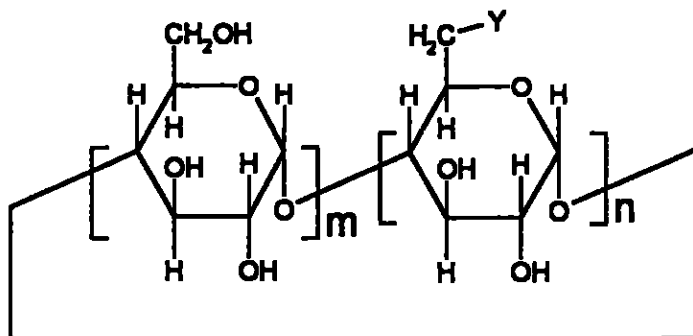
Son preferidos los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I donde X es COOH, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Más preferidos son los derivados de 6-mercapto- γ -ciclodextrina de fórmula I donde n es 8, R es (C₁₋₆)alquileo y X es COOH.

Los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina particularmente preferidos de la invención son:

6-per-deoxi-6-per-(2-carboxietil)tio- γ -ciclodextrina;
 6-per-deoxi-6-per-(3-carboxipropil)tio- γ -ciclodextrina;
 6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina;
 6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenilmetil)tio- γ -ciclodextrina;
 6-per-deoxi-6-per-(2-carboxipropil)tio- γ -ciclodextrina; y
 6-per-deoxi-6-per-(2-sulfoetil)tio- γ -ciclodextrina.

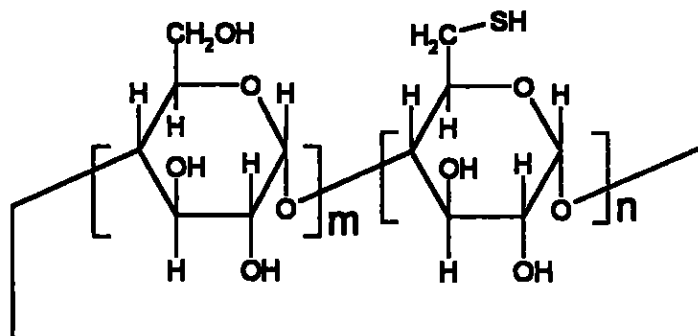
Los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I pueden prepararse haciendo reaccionar un derivado de ciclodextrina C6-activado de fórmula II con un derivado de alquiltiol, arilalquiltiol o ariltiol correspondiente a H-S-R-X, donde R, X tienen los significados definidos anteriormente, en presencia de una base inorgánica u orgánica.



Fórmula II

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 , e Y es un grupo saliente que puede ser un haluro (Cl, Br ó I), éster sulfúrico o una función éster sulfónico, tal como un tosilato, un naftalenosulfonato o un triflato.

A la inversa, los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I también pueden prepararse haciendo reaccionar un derivado de 6-tiol γ - ó β -ciclodextrina de fórmula III con un agente alquilante, por ejemplo alquil haluro, arilalquil haluro, alquil sulfonato, arilalquil sulfonato, correspondiente a $Y-X-R$, donde Y , X , R tienen los significados definidos anteriormente, o con un reactivo que contiene un doble enlace, por ejemplo vinil alcano, acrilato, etc., o un epóxido en presencia de una base inorgánica u orgánica.



Fórmula III

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 .

Las rutas de síntesis alternativas para la preparación de los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de la

invención, son conocidas para un experto en el arte. La química de la derivatización de las ciclodextrinas está bien documentada (véase, por ejemplo, "Comprehensive Supramolecular Chemistry", Volúmenes 1-11, Atwood J.L., Davies J.E.D., MacNicol D.D., Vogtle F., Eds.; Elsevier Science Ltd., Oxford, Reino Unido, 1996).

Las sales farmacéuticamente aceptables de los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I, donde X representa el grupo ácido carboxílico COOH, el grupo ácido sulfónico SO₂OH, el grupo ácido fosfónico PO(OH)₂ o el grupo tetrazol-5-ilo, pueden obtenerse tratando el ácido con una base orgánica o una base mineral, tal como hidróxido de sodio, de potasio o de litio.

Los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina o sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables para el uso en la invención, son administrados parenteralmente. La vía de inyección puede ser intravenosa, subcutánea, intradérmica, intramuscular o intra-arterial. La vía intravenosa es la preferida. La dosis exacta que será usada necesariamente será dependiente de las necesidades del sujeto individual a quien el medicamento está siendo administrado, el grado de actividad muscular que debe ser restablecida y el criterio del anestesista/especialista en cuidado de enfermos críticos. La aplicación extracorporal de los quelantes químicos de la invención, por ejemplo mezclando el quelante químico con la sangre durante la diálisis o durante la plasmaféresis, también está contemplada.

En otro aspecto, la invención se refiere a un kit para proporcionar bloqueo neuromuscular y su reversión que

comprende (a) un agente bloqueador neuromuscular, y (b) un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I, capaz de formar un complejo de tipo asociado ("guest")-huésped con el agente bloqueador neuromuscular. Un kit de acuerdo con la invención significa una formulación que contiene preparaciones farmacéuticas separadas, esto es el agente bloqueador neuromuscular y un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I, o sea el agente de reversión. Los componentes de este kit de partes deben ser usados secuencialmente, o sea el agente bloqueador neuromuscular es administrado a un sujeto que lo necesita, lo que va seguido, en un punto del tiempo en que se requiere el restablecimiento de la función muscular, por la administración del agente de reversión, o sea un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de la presente invención.

Un kit preferido de acuerdo con la invención contiene un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I y un agente bloqueador neuromuscular que se selecciona del grupo consistente en rocuronio, vecuronio, pancuronio, rapacuronio, mivacurio, atracurio, (cis)atracurio, tubocurarina y suxametonio. Un kit particularmente preferido de la invención comprende rocuronio como el agente bloqueador neuromuscular.

Mezclado con auxiliares farmacéuticamente adecuados y líquidos farmacéuticamente adecuados, por ejemplo como se describe en la referencia estándar Gennaro y colaboradores, Remington's Pharmaceutical Sciences, (18a Ed., Mack Publishing Company, 1990, Parte 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture; ver especialmente Capítulo 84 sobre

"Preparaciones parenterales", pp. 1545-1569; y Capítulo 85 sobre "Mezclas intravenosas", pp. 1570-1580), los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina pueden ser aplicados en la forma de una solución, por ejemplo para el uso como una preparación inyectable.

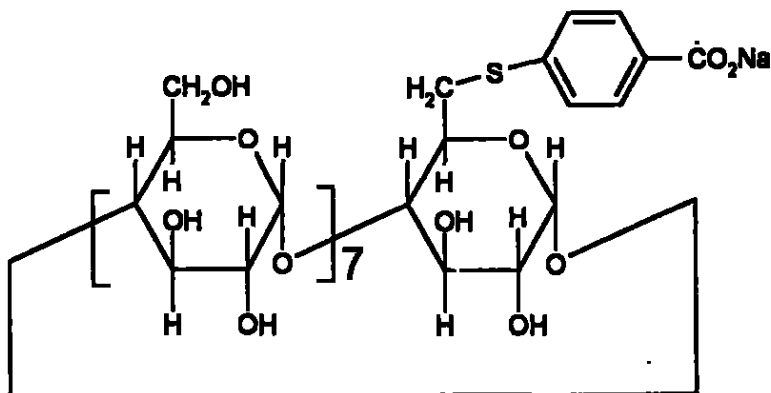
Alternativamente, la composición farmacéutica puede ser presentada en contenedores de dosis unitaria o multi-dosis, por ejemplo frascos sellados y ampollas, y puede ser almacenada en una condición secada por congelación (liofilizada) requiriendo sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua, antes del uso.

La invención además incluye una formulación farmacéutica, como se describió anteriormente, en combinación con un material de envase adecuado para dicha composición, dicho material de envase incluyendo instrucciones para el uso de la composición descrito anteriormente.

La invención se ilustra en los siguientes ejemplos.

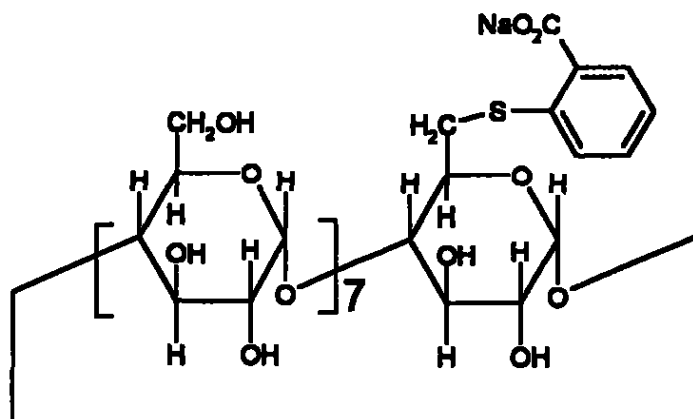
Ejemplo 1

6-Mono-deoxi-6-mono-(4-carboxifenil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica



A un matraz de fondo redondo que contenía piridina (120 ml), se agregó γ -ciclodextrina seca (2,0 g, 1,54 mmol) bajo nitrógeno a temperatura ambiente. Después de la disolución, se agregó 2-naftalenosulfonil cloruro (1,05 g, 4,64 mmoles) en piridina (20 ml), y la mezcla fue agitada por 24 horas, extinguida con agua (50 ml) y evaporada a sequedad para dejar 6-mono-O-(2'-naftalenosulfonil)- γ -ciclodextrina cruda.

Hidruro de sodio (0,38g, 15,83 mmoles) fue suspendido en dimetilformamida seca (20 ml). Enseguida se agregó ácido 4-mercaptobenzoico (0,7 g, 4,55 mmoles) a la suspensión y la mezcla resultante fue agitada por 20 minutos. Se agregó γ -ciclodextrina nosilato (3,2g, 2,12 mmoles) a la mezcla y la reacción fue calentada a 100°C por 90 minutos. Después de enfriar, se agregó acetona para precipitar un sólido, que fue reprecipitado en agua/acetona. Luego, esto fue disuelto en agua (20ml), el pH fue ajustado a 7,0 añadiendo ácido clorhídrico 2N, y enseguida se sometió a cromatografía en una columna Sephadex DEAE A-25. Las fracciones apropiadas fueron combinadas, dializadas y luego precipitadas dos veces en agua/acetona, para dar 400 mg del compuesto del título. ^1H NMR en DMSO δ 7,4 a 7,8 (ArH), 5,0 a 5,2 (8 H), 4,13 (1 H), 3,7 a 4,0 (29 H), 3,7 a 3,4 (17 H), 3,25 (1 H) ppm. ^{13}C NMR en DMSO δ 129,9 y 127,5 (ArC), 103,3 y 102,9 (C1 y C1'), 85,0 (C 4'), 81,6 (C 4), 73,8 (C 3), 73,5 (C 2), 72,2 (C 5), 70,8 (C 5'), 60,6 (C 6), 34,3 (C 6') ppm. Electrorroció MS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1.455,7$ y $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1.477,7$.

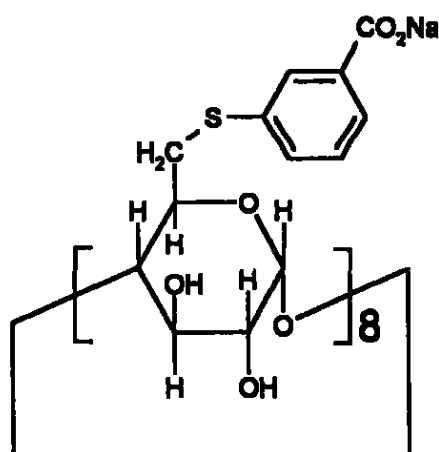
Ejemplo 26-Mono-deoxi-6-mono-(2-carboxifenil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica

Hidruro de sodio (al 60% disperso en aceite, 0,18 g, 4,5 mmoles) fue agregado a ácido tiosalicílico (0,34 g, 2,2 mmoles) en DMF (25 ml) en una porción, y se agitó a temperatura ambiente por 30 minutos. Enseguida, a esto se agregó la solución cruda de 6-mono-O-(2'-naftalenosulfonil)-γ-ciclodextrina (2,5 g, 1,45 mmol) en DMF (15 ml) y se calentó a 70°C durante 24 horas. La mezcla fue enfriada y extinguida con agua (20 ml) antes de evaporar a sequedad. Luego se agregó agua al residuo, y la solución resultante fue vertida en acetona (250 ml) para efectuar la precipitación. El sólido resultante fue recolectado por filtración y disuelto en agua (10 ml) antes de pasarlo a través de una columna Sephadex DEAE A-25, eluyendo con agua y luego con NaOH 0,2 N. Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y evaporadas hasta un pequeño volumen y dializadas (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona

(100 ml). El sólido fue recolectado por filtración y secado al vacío a 70°C, para dejar el compuesto del título (235 mg) como un sólido blanco. ^1H NMR (D_2O) δ 7,50-7,10 (4 H, m, Ar-H), 5,14 (8 H, m, CyD 1-H), 4,16 (1 H, m, CyD 5-H), 3,98-3,85 (26 H, m, CyD 3,5,2,4-H), 3,70-3,61 (20 H, m, CyD 2,3,4,6-H), 3,15 (1 H, m, CyD 6-H) ppm; Electrorroció MS m/z 1.477,6 para $[\text{M}+\text{Na}]^+$, calculado para $\text{C}_{55}\text{H}_{83}\text{NaO}_{41}\text{S}$ M 1.455,304.

Ejemplo 3

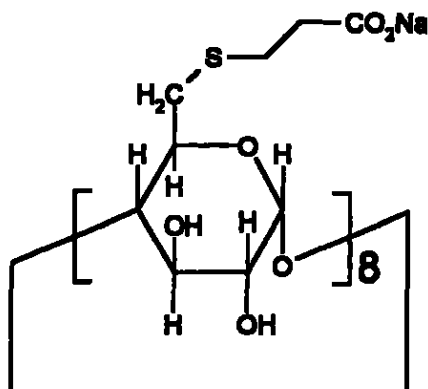
6-Per-deoxi-6-per-(3-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica



Trifenilfosfina (30,1 g, 15 eq) fue disuelta con agitación en DMF seca (160 ml). A esto se agregó yodo (30,5 g, 15,6 eq) en 10 minutos, con desprendimiento de calor. Enseguida se agregó γ -ciclodextrina seca (10 g, 7,7 mmoles) y la mezcla se calentó a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar, se le agregó metóxido de sodio (3,1 g de sodio en 50 ml de metanol) y la mezcla fue agitada por 30 minutos, antes de verterla en metanol (800 ml) y evaporar a sequedad. Al

residuo se agregó agua (500 ml) y el sólido fue recolectado por filtración y lavado con agua (3x100 ml) y luego acetona (3x100 ml) y secado al vacío a 70°C, para dar 6-per-deoxi-6-per-yodo- γ -ciclodextrina como un sólido de color amarillo (16,2 g), que fue usado sin mayor purificación.

A una solución de ácido 3-mercaptopbenzoico (1,0 g, 10 eq) en DMF (30 ml), se agregó hidruro de sodio al 60% disperso en aceite (476 mg, 22 eq) en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue enfriada y se le agregó 6-per-deoxi-6-per-yodo- γ -ciclodextrina (1,4 g) en DMF (30 ml). Luego, la mezcla fue agitada a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida con la adición de agua (20 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. La solución fue vertida en acetona (500 ml) y el precipitado fue recolectado por filtración, disuelto en agua (20 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona (250 ml). El precipitado sólido fue recolectado por filtración y secado al vacío a 70°C para dar el compuesto del título (1,45 g) como un sólido blanco: ^1H NMR (D_2O) δ 7,77 (8 H, br s, Ar-H), 7,55 (8 H, d, $J = 6,0$ Hz, Ar-H), 7,71 (16 H, m, Ar-H), 5,16 (8 H, s, CyD 1-H), 4,00-3,94 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3,58-3,53 (16 H, m, CyD 4,2-H), 3,43-3,40 (8 H, m, CyD 6-H), 3,24-3,20 (8 H, m, CyD 6-H); Electrorrocío m/z 1.190,6 para $[\text{M}-8\text{Na}+6\text{H}]^{2-}$, calculado para $\text{C}_{104}\text{H}_{104}\text{Na}_8\text{O}_{48}\text{S}_8$ M 2.562,39.

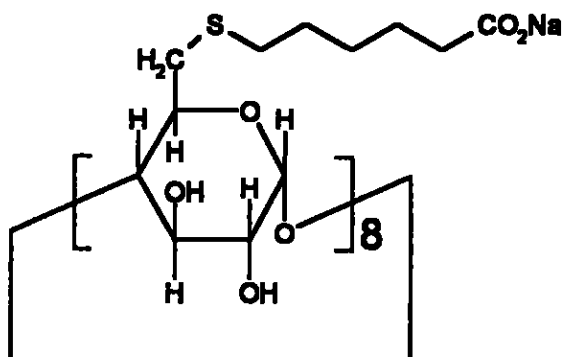
Ejemplo 46-Per-deoxi-6-per-(2-carboxietil)tio-γ-ciclodextrina, sal
sódica

Acido 3-mercaptopropiónico (1,22 ml, 14,0 mmoles) fue disuelto en DMF seca (45 ml) bajo N_2 a temperatura ambiente. A esta solución se agregó, en tres porciones, hidruro de sodio (1,23 g, 30,8 mmoles, al 60%) y la mezcla fue agitada por 30 minutos más. A esta mezcla se agregó enseguida gota a gota una solución de 6-per-deoxi-6-per-yodo-γ-ciclodextrina (3,12 g, 1,40 mmol) en 45 ml de DMF seca. Después de la adición, la mezcla de reacción fue calentada a 70°C por 12 horas. Después de enfriar, se agregó agua (10 ml) a la mezcla, y el volumen fue reducido a 40 ml al vacío, a lo cual se agregó etanol (250 ml), causando la precipitación. El precipitado sólido fue recolectado por filtración y dializado por 36 horas. Luego, el volumen fue reducido a 20 ml al vacío. A esto se agregó etanol, y el precipitado fue recolectado por filtración y secado para dar el compuesto del título como un sólido blanco (1,3 g, 43%). 1H -NMR D_2O δ 2,47-2,51 (m, 16H); 2,84-2,88 (m, 16H); 3,00-3,02 (t, 8H); 3,11-

3,14 (t, 8H); 3,62-3,68 (m, 16H); 3,92-3,97 (m, 8H); 4,04-4,06 (m, 8H); 5,19 (m, 8H) ppm. MS FIA +ion a 2.024,9 m/z.

Ejemplo 5

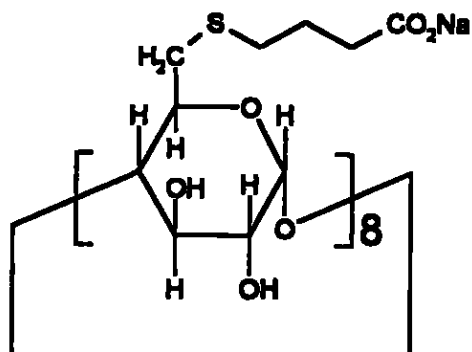
6-Per-deoxi-6-per-(5-carboxipentil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica



El compuesto del título se preparó de manera similar a la descrita en el Ejemplo 4, haciendo reaccionar ácido 6-mercaptohexanoico (1,34 g, 0,90 mmol) con 6-per-deoxi-6-per-yodo-γ-ciclodextrina. $^1\text{H-NMR}$ D_2O δ 1,40 (s, 16H); 1,57-1,64 (m, 32H); 2,17-2,21 (m, 16H); 2,67-3,00 (m, 16H); 2,85-2,90 (m, 8H); 3,15-3,20 (m, 8H); 3,52-3,59 (m, 8H); 3,60-3,63 (m, 8H); 3,87-3,93 (m, 16H); 5,16 (s, 8H) ppm. MS FIA +iones a 2.362,2, 2.213, 2.065 y 1.919 m/z.

Ejemplo 6

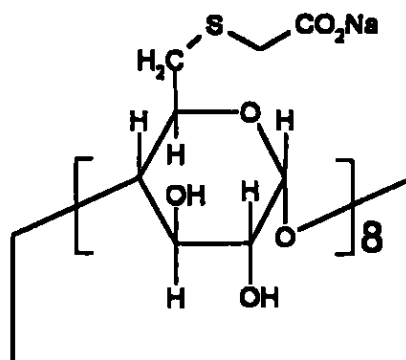
6-Per-deoxi-6-per-(3-carboxipropil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica



El compuesto del título se preparó de manera similar a la descrita en el Ejemplo 4, haciendo reaccionar ácido 4-mercaptobutírico (1,10 g, 0,009 mol) con 6-per-deoxi-6-per-yodo-γ-ciclodextrina. $^1\text{H-NMR}$ D_2O δ 1,87-1,88 (m, 16H); 2,27-2,30 (m, 16H); 2,67-2,71 (m, 16H); 2,98-3,00 (m, 8H); 3,13-3,16 (m, 8H); 3,61-3,63 (m, 16H); 3,94-4,03 (m, 16H); 5,21 (s, 8H) ppm. MS FIA +ion a 2.138,8 m/z.

Ejemplo 7

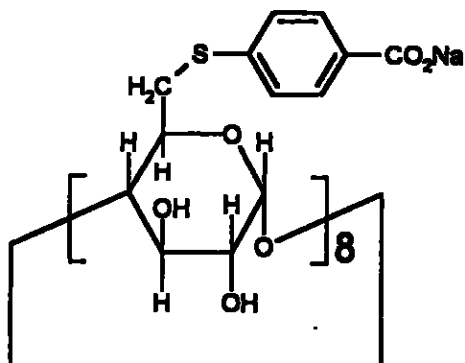
6-Per-deoxi-6-per-carboximetiltio-γ-ciclodextrina, sal sódica



Hidruro de sodio (dispersión al 60%, 0,34g, 8,60 mmoles) fue agregado a una solución agitada de 2-mercaptoacetato de etilo (0,92ml, 8,40 mmoles) en DMF (20 ml), bajo nitrógeno a temperatura ambiente. Una vez que cesó la efervescencia (15 minutos), se agregó al sistema per-6-deoxi-

per-6-yodo- γ -ciclodextrina (2,17g, 1,00 mmol). Después de 5 minutos más, la temperatura fue elevada a 70°C y la reacción se dejó con agitación por 17 horas. Después de enfriar, la DMF fue removida al vacío. Se agregó metanol (50 ml) y un sólido blanco cremoso cristalizó lentamente de la solución. Este fue filtrado bajo succión, lavado con metanol y secado, para dar 6-per-deoxi-6-per-carbetoximetiltio- γ -ciclodextrina como un sólido (1,74 g, 82%). $\delta_{\text{H}}(\text{d6-DMSO})$ 4,95-4,85 (8H, m, 8 x CH anomérico), 4,05 (16H, q, 8 x CH_2CH_3), 3,85-3,75 (8H, m), 3,60-3,50 (8H, m), 3,40-3,20 (32H, bs, 8 x CH_2SCH_2), 3,20-3,10 (8H, m), 2,95-2,85 (8H, m), 1,20 (24H, t, 8 x CH_2CH_3).

A una solución 1M de hidróxido de sodio (7 ml), se agregó 6-per-deoxi-6-per-carbetoximetiltio- γ -ciclodextrina (1,00 g, 0,47 mmol), y la reacción se dejó agitando a temperatura ambiente. Después de 18 horas, la solución clara fue dializada por 8 horas, reemplazándose el agua (2 L) cada 2 horas. Después de este tiempo, el contenido de la tubería de diálisis fue vaciado en un matraz, y el agua fue evaporada al vacío dando el compuesto del título como un sólido blanco (0,62 g, 64%). $\delta_{\text{H}}(\text{D}_2\text{O})$ 5,21 (8H, d, 8 x CH anomérico), 4,18-4,05 (8H, m), 4,00 (8H, dd), 3,78 (8H, dd), 3,70 (8H, dd), 3,40 (16H, dd), 3,20 (8H, d), 3,02 (8H, dd). $\delta_{\text{C}}(\text{D}_2\text{O})$ 178,1, 101,6, 82,8, 73,0, 72,7, 71,8, 39,0, 34,1 LC/MS TOF 1.889 m/z.

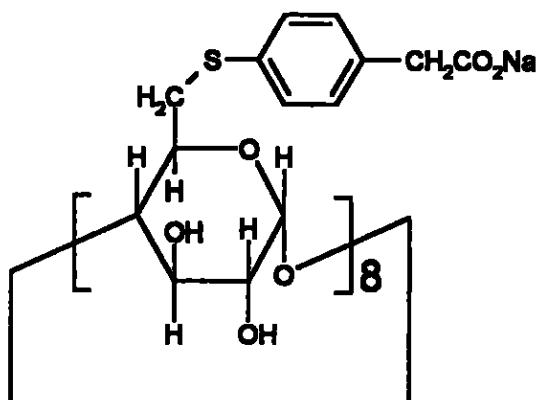
Ejemplo 8**6-Per-deoxi-6-per-(4-carboxifenil)tio-γ-ciclodextrina, sal
sódica**

A una solución de ácido 4-mercaptobenzoico (856 mg) en DMF (30 ml), se agregó hidruro de sodio al 60% disperso en aceite (372 mg), en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue enfriada y se le agregó per-6-deoxi-per-6-bromo-γ-ciclodextrina (1,0 g) en una porción, y la mezcla fue agitada a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida con la adición de agua (20 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. La solución fue vertida en etanol (250 ml) y el precipitado fue recolectado por filtración, disuelto en agua (20 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona (250 ml). El precipitado sólido fue recolectado por filtración y secado al vacío a 70°C, para dar el compuesto del título (1,2 g) como un sólido blanco. ^1H NMR (D_2O , 343K) δ 7,70 (16 H, d, $J = 8,1$ Hz, Ar-H), 7,23 (16 H, d, $J = 7,3$ Hz, Ar-H), 5,15 (8 H, s, CyD 1-H), 4,00-3,96 (16 H, m,

CyD 3,5-H), 3,55-3,53 (24 H, m, CyD 6',4,2-H), 3,15 (8 H, m, CyD 6-H); MALDI-TOF m/z 2.383,7 para $[M-Na+H]^+$, calculado para $C_{104}H_{104}Na_8O_{48}S_8$ M 2.562,39.

Ejemplo 9

6-Per-deoxi-6-per-(4-carboximetilfenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica

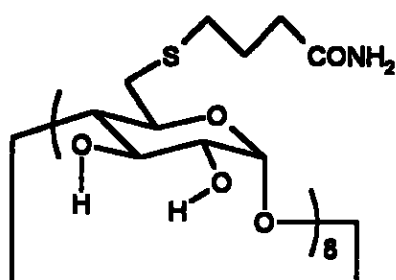


A una solución de ácido 4-mercaptofenilacético (10 eq) en DMF (50 ml), se agregó hidruro de sodio al 60% en aceite (22 eq), en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue enfriada y se le agregó per-6-deoxi-per-6-bromo- γ -ciclodextrina (1,0 g) en una porción, y la mezcla fue agitada a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida con la adición de agua (20 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. Luego, la solución fue vertida en acetona (250 ml) y el precipitado fue recolectado por filtración, suspendido en agua (20 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona (250 ml). El precipitado sólido fue recolectado por filtración y secado al vacío a 70°C, para dar

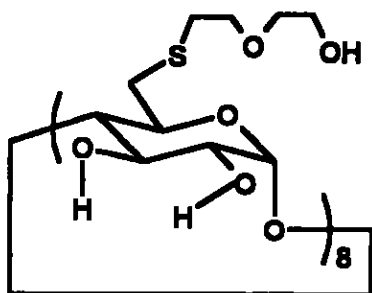
el compuesto del título (1,44 g) como un sólido blanco. ^1H NMR (D_2O , 343K) δ 7,15 (16 H, d, $J = 8,0$ Hz, Ar-H), 6,99 (16 H, d, $J = 8,0$ Hz, Ar-H), 4,98 (8 H, s, CyD 1-H), 3,90-3,72 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3,51-3,43 (16 H, m, CyD 4,2-H), 3,28 (24 H, m, $\text{CH}_2\text{-Ar}$, CyD 6'-H), 3,15-3,10 (1 H, m, CyD 6-H); MALDI-TOF m/z 2.495,8 para $[\text{M-Na}+\text{H}_6]$, calculado para $\text{C}_{112}\text{H}_{120}\text{Na}_8\text{O}_{48}\text{S}_8$ M 2.674,6.

Ejemplo 10

6-Per-deoxi-6-per(3-amidopropil)tio- γ -ciclodextrina

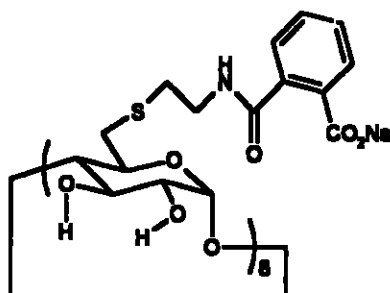


A una mezcla de 6-per-deoxi-6-per-tio- γ -ciclodextrina (500 mg; preparada como se describe en el Ejemplo 17) y yoduro de potasio (5 mg) en DMF (10 ml), se agregó 4-clorobutamida (673 mg; Fries y colaboradores, *Biochemistry* 1975, 14, 5233). Se agregó carbonato de cesio (1,8 g) y la mezcla de reacción fue calentada a 60°C durante la noche. La mezcla resultante fue vertida en acetona, filtrada, lavada con etanol y agua y luego secada al vacío (118 mg; 16,2%). ^1H NMR ($\text{DMSO}/\text{D}_2\text{O}$) δ 4,9 (1H, s), 3,8 (1H, m), 3,6 (1H, m), 3,4 (2H, m), 3,05 (1H, m), 2,85 (1H, m), 2,2 (2H, m), 1,75 (2H, m). Espectro de masa por electrorrocío M-H (m/z) 2.105.

Ejemplo 116-Per-deoxi-6-per(5-hidroxi-3-oxa-pentil)tio-γ-ciclodextrina

2-(2-Mercaptoetoxi)etanol (1,4 g, 11,6 mmoles) fue disuelto en DMF (20 ml) y se comenzó la agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Enseguida se agregó per-6-bromo-γ-ciclodextrina (2 g, 1,12 mmol) y carbonato de cesio (3,2 g, 9,86 mmoles), y la suspensión resultante fue agitada a 60°C durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión fue vertida en acetona (200 ml) y el material insoluble fue aislado por filtración, lavado con acetona (x3) y secado al vacío. El producto crudo fue disuelto en agua desionizada (20 ml) y dializado (10 horas). Enseguida, los contenidos de la membrana de diálisis fueron concentrados al vacío para dar 1 g del producto deseado como un sólido en crema.

^1H NMR (D_2O , 400MHz): δ 2,81-3,00 (m, 24H), 3,21-3,31 (d, 8H), 3,49 (t, 8H), 3,55-3,75 (m, 56H), 3,82 (t, 8H), 3,89 (t, 8H), 5,11 (d, 8H). ESI-MS: 2.175 (M-H) $^-$.

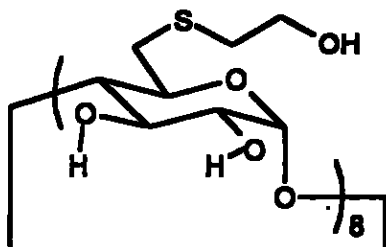
Ejemplo 12**6-Per-deoxi-6-per[(2(2-carboxibenzoil)amino)etil]tio-γ-ciclodextrina, sal sódica**

Per-6-mercapto-γ-ciclodextrina (1 g, 0,7 mmol; véase Ejemplo 17) fue disuelto en DMF (10 ml) y se comenzó la agitación a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agregó N-(2-bromoetil)ftalimida (1,57 g, 6,17 mmoles) y carbonato de cesio (2 g, 6,17 mmoles), y la suspensión resultante fue agitada a 60°C durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la DMF fue removida al vacío y se agregó agua (100 ml) con agitación vigorosa. El precipitado fue aislado por filtración, lavado con agua (x3) y secado al vacío para dar 1,67 g de un sólido en crema. Enseguida se agregó hidróxido de sodio acuoso (1M, 20 ml) al producto crudo (600 mg), y la solución resultante fue agitada a temperatura ambiente durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Luego, la solución fue dializada con agua desionizada hasta pH constante, y los contenidos de la membrana de diálisis fueron secados al vacío para dar 500 mg del producto deseado como un sólido vidrioso.

^1H NMR (D_2O , 400MHz): δ 2,76-2,96 (m, 24H), 3,10-3,30 (m, 8H), 3,35-3,62 (m, 32H), 3,78-3,95 (m, 16H), 5,02 (d, 8H), 7,30-7,62 (m, 32H); ESI-MS: 1.477 (M-2H) $^{2-}$.

Ejemplo 13

6-per-deoxi-6-per(2-hidroxietil)tio- γ -ciclodextrina



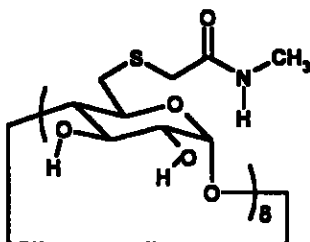
A una solución agitada de 2-mercaptoetanol (10,85 g, 10 eq) en DMF (500 ml) bajo nitrógeno, se agregó hidruro de sodio al 60% disperso en aceite (11,7 g, 21 eq), en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 90 minutos. Se agregó per-6-deoxi-6-per-bromo- γ -ciclodextrina (25,0 g) y la mezcla se calentó a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida mediante adición de agua (50 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. El residuo fue recogido en agua (100 ml) y vertido sobre metanol/acetona 1:1 (500 ml). El sólido formado fue recolectado por filtración, disuelto en agua (500 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y después recristalizada en agua caliente para dar el compuesto del título (8,5 g) como cristales blancos en forma de cruz.

^1H NMR (400MHz; DMSO) δ 5,91 (16 H, br s, 2,3-OH), 4,92 (8 H, s, 1-H), 4,71 (8H, t, J 4,4 Hz, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3,75 [8H, t, J 8,0 Hz, 3-H (δ 5-H)], 3,60-3,50 [24H, m, 5-H (δ 3-H), $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$]; 3,40-3,30 (16H, m, 4-H, 2-H), 3,08 (8H, d, J 13,6 Hz, 6-H), 2,82 (8H, dd, J 13,6, 6,8 Hz, 6-H), 2,66 (16H, t, J 6,8 Hz, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); m/z (electrorrocío) 1.775,4 para $[\text{M}-\text{H}]^-$, calculado para $\text{C}_{64}\text{H}_{112}\text{S}_8\text{O}_{40}$ M 1.776,45.

La preparación de este compuesto por un método similar ha sido publicada anteriormente: J. Chem. Soc., Chem. Commun., 203 (1993).

Ejemplo 14

6-Per-deoxi-6-per(N-metilamidometil)tio- γ -ciclodextrina



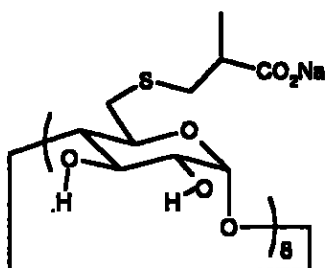
A una solución agitada de N-metilmercaptoacetamida (0,58 g, 10 eq) en DMF (30 ml) bajo nitrógeno, se agregó hidruro de sodio al 60% disperso en aceite (0,22 g, 10 eq), en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 30 minutos. Se agregó per-6-deoxi-6-per-bromo- γ -ciclodextrina (1,0 g) y la mezcla se calentó a 60-70°C por 48 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida con la adición de agua (20 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. La solución residual fue vertida en etanol (100 ml). El sólido

formado fue recolectado por filtración, disuelto en agua (200 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en etanol (100 ml). El precipitado fue recolectado por filtración y secado al vacío para dar el compuesto del título (0,55 g) como un sólido blanco.

^1H NMR (400MHz; D_2O) δ 5,29 (8H, d, J 4,0 Hz, 1-H), 4,10 (8H, br t, J 9,6 Hz, 5-H), 4,05 (8H, t, J 9,8 Hz, 3-H), 3,83 (8H, dd, J 10,0, 3,6 Hz, 2-H), 3,74 (8H, t, J 9,2 Hz, 4-H), 3,58-3,49 [16H, sistema AB, $\text{SCH}_2\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$], 3,36 (8H, br d, J 12,8 Hz, 6-H), 3,07 (8H, dd, J 14,0, 8,4 Hz, 6-H), 2,94 (24H, s, $\text{SCH}_2\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$); m/z (electrorroció) 1.991,7 para $[\text{M}-\text{H}]^-$, calculado para $\text{C}_{72}\text{H}_{120}\text{N}_8\text{S}_8\text{O}_{40}$ M 1.992,54.

Ejemplo 15

6-Per-deoxi-6-per(2-carboxipropil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica



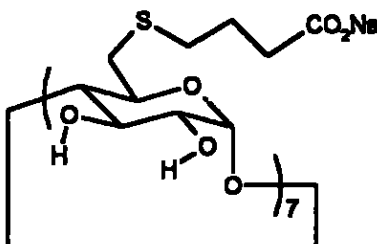
Hidruro de sodio (al 60% en aceite) (0,44 g) fue agregado a 3-mercapto-2-metilpropionato de metilo (1,474 g; J. Med. Chem., 1994, 1159) en dimetilformamida (25 ml). Después de 30 minutos, se agregó per-6-deoxi-per-6-bromo- γ -ciclodextrina (2,25 g), disuelta en dimetilformamida (25 ml).

Se agregó un cristal de yoduro de sodio y la mezcla se calentó a 75°C durante la noche. El solvente fue destilado y el residuo fue cristalizado en metanol para dar el metil éster (1,3 g). Espectro de masa (M-H) 2.224; ^1H NMR (dmsó D_6): δ 1,41 (d, 24H), 2,68 (m, 16H), 2,80 (m, 16H), 3,00 (m, 8H), 3,61 (s, 24H), 3,79 (m, 8H), 4,95 (s, 8H).

Enseguida, este producto fue agitado durante la noche con solución de hidróxido de sodio (M, 13 ml). La mezcla resultante fue filtrada, dializada hasta la neutralidad, y evaporada a sequedad para dar el compuesto del título (1,13 g). Espectro de masa (M-H) 2.112; ^1H NMR (D_2O): δ 1,15 (d, 24H), 2,5 (m, 8H), 2,65 (m, 8H), 2,8-3,1 (m, 24H), 3,65 (m, 16H), 4,0 (m, 16H), 5,2 (s, 8H).

Ejemplo 16

6-Per-deoxi-6-per(3-carboxipropil)tio- β -ciclodextrina, sal sódica

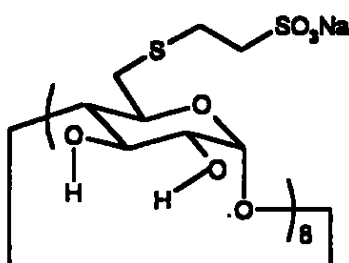


Per-6-deoxi-per-6-bromo- β -ciclodextrina (2,25 g), 4-mercaptobutirato de metilo (1,7 g; Tetrahedron 1998, 2652), carbonato de cesio (4,24 g) y dimetilformamida (25 ml), fueron agitados y calentados juntos por tres días. La mezcla fue enfriada, vertida en agua y filtrada. El sólido fue lavado con

metanol y secado (2,1 g). Esto fue agitado durante la noche con solución de hidróxido de sodio (M, 21 ml) y filtrado, y el filtrado fue dializado hasta la neutralidad. Esto fue evaporado a sequedad, dando el compuesto del título (1,7 g). Espectro de masa (M-H) 1.848,8. ^1H NMR (D_2O): δ 1,75 (m, 16H), 2,15 (m, 16H), 2,6 (m, 16H), 2,85 (m, 8H), 3,05 (m, 8H), 3,55 (m, 16H) 3,87 (m, 16H), 5,07 (s, 8H)

Ejemplo 17

6-Per-deoxi-6-per(2-sulfoetil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica



A: Per-6-deoxi-per-6-tio- γ -ciclodextrina

Per-6-deoxi-per-6-bromo- γ -ciclodextrina (20 g), tiourea (13,5 g) y dimetilformamida (100 ml) fueron calentados juntos por tres días a 65°C , y enseguida se agregó etanolamina (20 ml) y el calentamiento se continuó durante dos horas. La mezcla fue enfriada y diluida con agua helada, y el producto fue separado por centrifugación. El sólido fue lavado dos veces con agua y secado al vacío a 65°C , dando el tiol (7,34 g). Espectro de masa (M-H) 1.424. ^1H NMR (DMSO d_6): δ 2,82 (m, 8H), 3,20 (d, 8H), 3,35 (m, 16H), 6,65 (t, 8H), 7,75 (t, 8H), 5,0 (s, 8H).

34

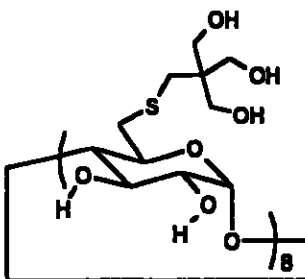
B: 6-Per-deoxi-6-per(2-sulfoetil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica

El per-tiol obtenido más arriba (1 g), sal sódica del ácido 2-bromoetano sulfónico (1,42 g), carbonato de cesio (2,2 g) y dimetilformamida (10 ml), fueron agitados y calentados durante la noche a 64°C. La mayor parte del solvente fue evaporado al vacío y el residuo fue disuelto en agua. Se agregó solución de bicarbonato de sodio (al 5% p/p, 5 ml) y la solución fue dializada tres veces con agua. Esta solución fue evaporada a sequedad y el residuo fue disuelto en solución de bicarbonato de sodio (10 ml), dializado y evaporado como anteriormente. Este proceso fue repetido, el sólido resultante fue disuelto en un pequeño volumen de agua y el producto fue precipitado con metanol. Esto fue disuelto en agua y evaporado a sequedad, dando el compuesto del título (1,18 g).

^1H NMR (D_2O): δ 3,9 (m, 24H), 3,2 (m, 24H), 3,55-3,65 (m, 16H), 3,9 (m, 8H), 4,05 (m, 8H), 5,15 (s, 8H)

Ejemplo 18

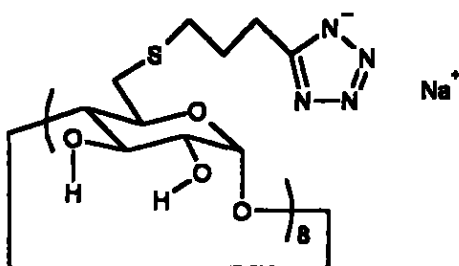
6-Per-deoxi-6-per(2,2-di(hidroximetil)-3-hidroxipropil)tio- γ -ciclodextrina



Per-6-deoxi-per-6-tio- γ -ciclodextrina (500 mg; Ejemplo 17), 3-bromo-2,2-dihidroximetilpropanol (670 mg), carbonato de cesio (550 mg) y dimetilformamida (10 ml), fueron calentados y agitados durante 35 días a 65°C, hasta que el análisis por LCMS mostró la conversión en el producto requerido. La mezcla fue evaporada a sequedad, disuelta en agua, dializada contra agua, evaporada hasta un pequeño volumen y precipitada con acetona. El secado al vacío dio el compuesto del título (550 mg). Espectro de masa FIA (M-H) 2.369. ^1H NMR (D_2O): δ 2,84 (m, 16H), 3,15 (m, 8H), 3,24 (m, 8H), 3,69 (s, 64H), 3,85-4,19 (m, 16H), 5,25 (s, 8H).

Ejemplo 19

6-Per-deoxi-6-per(3-(tetrazol-5-il)propil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica



Per-6-deoxi-per-6-tio- γ -ciclodextrina (1 g), 4-bromobutironitrilo (1 g), carbonato de cesio (1 g) y dimetilformamida (10 ml), fueron agitados juntos a 60°C durante el fin de semana. La mezcla fue enfriada, se le agregó agua y el precipitado fue separado por centrifugación. Después de lavar y secar, se obtuvo el per-butironitrilo (1,4 g). Este producto (1 g), azida de sodio (1,3 g), trietilamina

clorhidrato (2,8 g) y dimetilformamida (13 ml), fueron agitados y calentados juntos por 7 días a 100°C. La mezcla fue enfriada, diluida con agua y acidificada, y el precipitado fue filtrado. Este fue lavado con agua, sonificado con metanol, separado por centrifugación, secado y disuelto en solución de hidróxido de sodio (M, 10 ml), filtrado y dializado hasta la neutralidad. Esta solución fue evaporada a sequedad para dar el compuesto del título (600 mg). Espectro de masa (M-2H) 1.152,8. ^1H NMR (D_2O); δ 1,95 (m, 16H), 2,55 (m, 16H), 2,85 (m, 24H), 3,05 (d, 8H), 3,5 (m, 8H), 3,6 (m, 8H), 3,9 (m, 16H), 5,06 (s, 8H).

Ejemplo 20

Reversión del bloqueo neuromuscular en cobayos anestesiados in vivo.

Cobayos Dunkin-Hartley machos (peso corporal: 600-900 g) fueron anestesiados por administración i.p. de 10 mg/kg de pentobarbitona y 1.000 mg/kg de uretano. Después de la traqueotomía, los animales fueron ventilados artificialmente usando un ventilador para animales pequeños Harvard. Se colocó un catéter en la arteria carótida para el monitoreo continuo de la presión sanguínea arterial y la toma de muestras de sangre para el análisis de los gases sanguíneos. El pulso del corazón fue derivado de la señal de presión sanguínea. El nervio ciático fue estimulado (pulsaciones rectangulares de 0,5 ms de duración a intervalos de 10 s (0,1 Hz) a un voltaje supramáximo, usando un Estimulador Grass S88), y la fuerza de las contracciones de M. gastrocnemius se midió usando un transductor de fuerza-desplazamiento Grass FT03. Se

registraron las contracciones, presión sanguínea y pulso en una grabadora multicanal Grass 7D. Se colocaron catéteres en ambas venas yugulares. Un catéter fue usado para la infusión continua de un agente bloqueador neuromuscular. La velocidad de infusión del agente bloqueador neuromuscular fue aumentada hasta que se obtuvo un bloqueo de estado estable de 85-90%. El otro catéter fue usado para la administración de dosis crecientes del agente de reversión. Durante la infusión continua del agente bloqueador neuromuscular, se administraron dosis únicas de concentración creciente del agente de reversión. Al final del experimento, la fuerza medida de las contracciones musculares fue graficada contra la concentración del agente de reversión, y usando técnicas de análisis de regresión, se calculó la concentración para 50% de reversión.

Los resultados de la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por el relajante muscular bromuro de rocuronio (Roc), por los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de los Ejemplos 1-19, se presentan en la Tabla I. Para comparación, se incluyen también las actividades de reversión de los compuestos padres, β -ciclodextrina y γ -ciclodextrina.

33

TABLA I

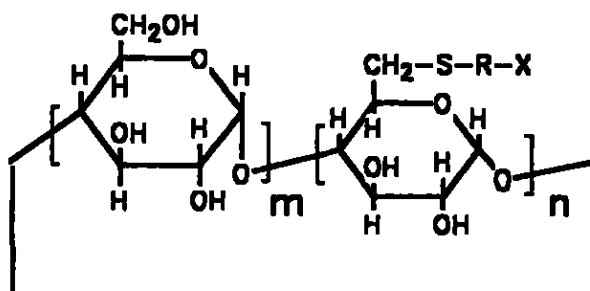
Dosis (ED_{50} , $\mu\text{mol.kg}^{-1}$) que produce el 50% de reversión del bloqueo neuromuscular de estado estable en cobayos anestesiados, y concentración a la reversión máxima.

Compuesto	ED_{50} $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	% de reversión máx a conc. ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$)
γ -ciclodextrina (γ -CD)	4	104 (47)
β -ciclodextrina (β -CD)	20	93 (113)
6-mono-deoxi-6-mono-(4-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 1)	0,94	102 (8,0)
6-mono-deoxi-6-mono-(2-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina (Ejemplo 2)	1,30	93 (11)
6-per-deoxi-6-per-(3-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina (Ejemplo 3)	0,28	102 (1,28)
6-per-deoxi-6-per-(2-carboxietil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 4)	0,09	97 (0,53)
6-per-deoxi-6-per-(5-carboxipentil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 5)	0,74	78 (2,5)
6-per-deoxi-6-per-(3-carboxipropil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 6)	0,09	108 (0,48)
6-per-deoxi-6-per-carboximetil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 7)	0,21	88 (1,92)
6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 8)	0,10	95 (0,48)
6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenilmetil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 9)	0,13	100 (0,50)
6-per-deoxi-6-per-(3-amidopropil)tio- γ -ciclodextrina (Ejemplo 10)	0,57	94 (33)
6-per-deoxi-6-per-(5-hidroxi-3-oxa-pentil)tio- γ -ciclodextrina (Ejemplo 11)	0,47	92 (2,1)
6-per-deoxi-6-per-[(2(2-carboxibenzol)amino)etil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 12)	0,085	95 (0,48)
6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxi-etil)tio- γ -ciclodextrina (Ejemplo 13)	0,20	96 (2,0)

Compuesto	ED ₅₀ μmol.kg ⁻¹	% de reversión máx a conc. (μmol.kg ⁻¹)
6-per-deoxi-6-per-(N-metilamidometil)tio-γ-ciclodextrina (Ejemplo 14)	1,54	102 (7,3)
6-per-deoxi-6-per-(2-carboxipropil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica. (Ejemplo 15)	0,10	103 (0,48)
6-per-deoxi-6-per-(3-carboxipropil)tio-β-ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 16)	0,5	100 (3,2)
6-per-deoxi-6-per-(2-sulfoetil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 17)	0,055	108 (1,7)
6-per-deoxi-6-per-(2,2-di(hidroximetil)-3-hidroxi-propil)tio-γ-ciclodextrina (Ejemplo 18)	2,9	63 (4,9)
6-per-deoxi-6-per-(3-(tetrazol-5-il)propil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 19)	0,22	109 (1,2)

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina
CARACTERIZADO porque tiene la fórmula general I:



Fórmula I

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 ;

R es (C_1-6) alquileo, opcionalmente sustituido con 1-3 grupos OH, ó $(CH_2)_o$ -fenileno- $(CH_2)_p$ -;

o, p son independientemente 0-4;

X es COOH, CONHR₁, NHCOR₂, SO₂OH, PO(OH)₂, O(CH₂-CH₂-O)_q-H, OH, o tetrazol-5-ilo;

R₁ es H ó (C_1-3) alquilo; C_1-C_3 .

R₂ es carboxifenilo;

q es 1-3;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

con la exclusión de

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)-β-ciclodextrina;

6-mono-deoxi-6-mono-(2-hidroxietiltio)-β-ciclodextrina;

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)-γ-ciclodextrina;

6-per-deoxi-6-per-(carboximetiltio)-β-ciclodextrina;

6-mono-deoxi-6-mono-(carboximetiltio)-β-ciclodextrina;

4/

6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis[(o-carboxifenil)tio]- β -ciclodextrina;
6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis(carboximetiltiol)- β -ciclodextrina
y
6-per-deoxi-6-per-(2,3-dihidroxi-propiltio)- β -ciclodextrina.

2. El derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque R, m, n son como se definió en la reivindicación 1, y X es COOH ó SO₂OH; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque m es 0; n es 8; R es (C₁₋₆)alquileo ó (CH₂)_o-fenileno-(CH₂)_p-; o, p son independientemente 0-4; y X es COOH ó SO₂OH; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, CARACTERIZADO porque se selecciona entre:

6-per-deoxi-6-per-(2-carboxietil)tio- γ -ciclodextrina;
6-per-deoxi-6-per-(3-carboxipropil)tio- γ -ciclodextrina;
6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina;
6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenilmetil)tio- γ -ciclodextrina;
6-per-deoxi-6-per-(2-carboxipropil)tio- γ -ciclodextrina; y
6-per-deoxi-6-per-(2-sulfoetil)tio- γ -ciclodextrina;
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque se usa en terapia.

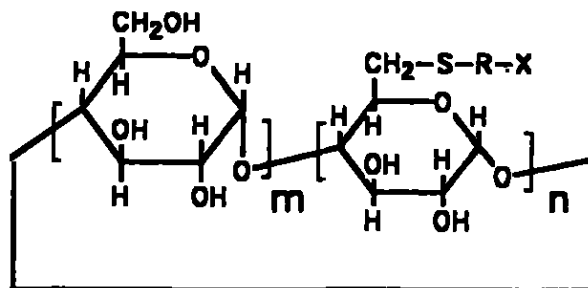
6. El uso de un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque sirve para preparar un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

7. Un kit para proporcionar bloqueo neuromuscular y su reversión, CARACTERIZADO porque comprende (a) un agente bloqueador neuromuscular, y (b) un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1.

8. El kit de acuerdo con la reivindicación 6, CARACTERIZADO porque el agente bloqueador neuromuscular se selecciona del grupo consistente en rocuronio, vecuronio, pancuronio, rapacuronio, mivacurio, (cis)atracurio, tubocurarina y suxametonio.

9. El kit de acuerdo con la reivindicación 7, CARACTERIZADO porque el agente bloqueador neuromuscular es rocuronio.

10. Una composición farmacéutica CARACTERIZADA porque comprende un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina que tiene la fórmula general I:



Fórmula I

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 ;

R es (C_1-6) alquileo, opcionalmente sustituido con 1-3 grupos OH , ó $(CH_2)_o$ -fenileno- $(CH_2)_p$ -;

o , p son independientemente 0-4;

X es $COOH$, $CONHR_1$, $NHCOR_2$, SO_2OH , $PO(OH)_2$, $O(CH_2-CH_2-O)_q-H$, OH , o tetrazol-5-ilo;

R_1 es H ó (C_1-3) alquilo;

R_2 es carboxifenilo;

q es 1-3;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mezclado con auxiliares farmacéuticamente aceptables.

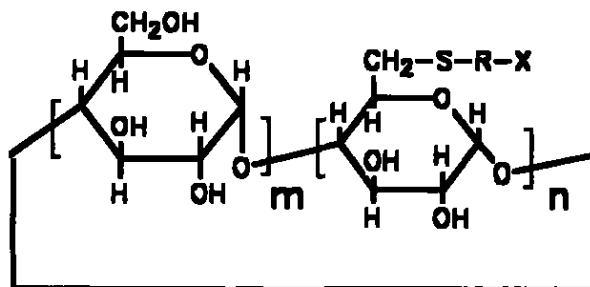
11. Un método para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos en un paciente, CARACTERIZADO porque comprende administrar parenteralmente a dicho paciente una cantidad eficaz de un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1.

802.341

2

Resumen

Se describe un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina que tiene la fórmula general I:



Fórmula I

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 ; R es (C_1-6) -alquileo, opcionalmente sustituido con 1-3 grupos OH, ó $(CH_2)_o$ -fenileno- $(CH_2)_p$ -; o , p son independientemente 0-4; X es COOH, CONHR₁, NHCOR₂, SO₂OH, PO(OH)₂, O(CH₂-CH₂-O)_q-H, OH, o tetrazol-5-ilo; R₁ es H ó (C_1-3) alquilo; R₂ es carboxifenilo; q es 1-3; o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

El derivado de 6-mercapto-ciclodextrina es muy adecuado para ser usado en la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

Título

Derivados de 6-mercapto-ciclodextrina usados como agentes de reversión para el bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO 31501

CARRERA 4ª N° 72-35

BOGOTÁ, D. C. COLOMBIA

REPRESENTACION Y PODER

For patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, slogans.

Para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales.

REPRESENTATION AND POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned / Yo (nosotros), abajo firmado (s)

AKZO NOBEL N.V.

of/domiciliado (s) en Velperweg 76, 6824

BM Arnhem, THE NETHERLANDS

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 891; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primer o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiales.

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 891; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact of its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, especially those administrative, administrative contencioso-administrative, and judicial, as well as before Arbitration Courts in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name and domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of these above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Given and signed this Day y signed hoy 6 AUG 1998

F.G.M. Hermans

in/en

Director Patents Pharma

E.H. Reerink

Deputy Director

Legal Affairs

Signature

AKZO NOBEL N.V.

CAVELIER ABOGADOS
WPPODERE-179 (MINUTA N° 12.1.12.5)

TRADUCCION No. 18.11.98
MARIA ELVIRA MACELO
Traductora e interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

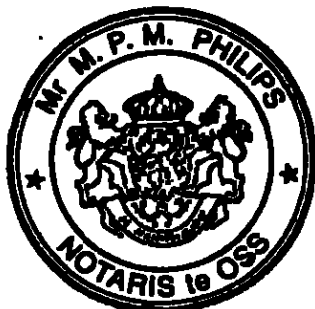
LEGALIZACION

El Señor Cónsul de Colombia debe expedir un certificado consular sobre (1) la existencia legal de la compañía que otorga el poder, (2) que ésta ejerce su objeto social, y (3) que las personas que otorgan el poder están autorizadas para darlo. A este efecto les solicitamos que muestren al Señor Cónsul las pruebas que acreditan esos hechos (1), (2) y (3).

LEGALIZATION

The Colombia Consul must issue a consular certificate, on (1) the legal existence of the company, which grants the Power-of-Attorney, (2) that it is in actual exercise of its company purposes, and (3) that the persons who execute the Power of Attorney is authorized to do so. To this effect, please show the Consul the evidence to prove the above facts (1), (2) and (3).

Seen for legalization of the signatures of Mr. F.G.M. Hermans and Mr. E.H. Reerink by me, Mr. Martinus Petrus Maria Philips, notary public at Oss, the Netherlands, on this 26th day of August 1998.



TRADUCCION No: 18/11/98
MARIA ELVIRA MARTELLO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

15499



CHAMBER OF COMMERCE AND INDUSTRY
FOR OOST-BRABANT (NEDERLAND)

EXCLUSIVE PLACE FOR LEGALIZATION OF
THE SIGNATURE(S)

27 AUG 1998

KAMER VAN COOP EN HANDEL
OOST-BRABANT
's-HERTOGENBOSCH

J. Schellekens

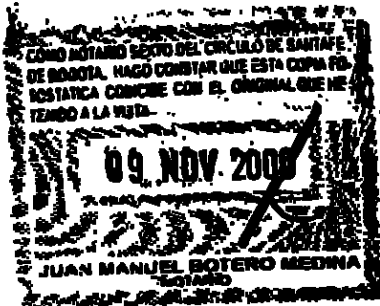
Gezien voor legalisatie van de handtekening
van dhr/mw J. Schellekens

's-Gravenhage, 09 SEP 1998



De Minister van
Buitenlandse Zaken
voor deze,

Leges f 20,- H.H. van POORTEN



NOTA PARA EL SEÑOR CONSUL DE COLOMBIA: Según los artículos 65 del C. de P.C. y 480 del C. de Co., si el poderdante es una sociedad, el Señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su existencia, que ejerce su objeto social y que quien confiere el poder es su representante.



CONSULADO DE COLOMBIA

COLD 11214-801-001-3

46

El suscrito Cónsul de Colombia en La Haya, Holanda,
vistos los documentos presentados por los interesados,

CERTIFICA:

Que el Señor Martinus Petrus Maria PHILIPS, quien como Notario Público de
Oss, Países Bajos, autenticó las firmas de los signatarios del poder precedente, ejercía en la
fecha las funciones indicadas, y su firma corresponde a la registrada en este Consulado.

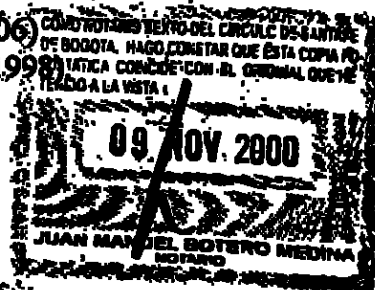
Que la Compañía AKZO NOBEL N.V. es una Sociedad constituida de acuerdo con las leyes
de los Países Bajos, cumple su objeto conforme a las mismas y se halla registrada en la Cámara
de Comercio y Fábricas de Centraal Gelderland, Arnhem, bajo el número 09007809;

Que los Señores Franciscus Guilielmus Maria HERMANS y Engbert Harmen
REERINK, signatarios del presente documento, quienes en su carácter de Apoderados
de la Empresa AKZO NOBEL N.V., conjuntamente tienen facultad para ello, y cuyas
firmas fueron autenticadas ante el Notario Público de Oss, Señor Martinus Petrus Maria
PHILIPS, son los representantes legales de la citada Empresa en este País.

El Cónsul de Colombia en La Haya, Países Bajos, no asume responsabilidad
alguna por el contenido del documento.

Esta certificación se expide en La Haya, Países Bajos, a los seis (06) días del mes de Noviembre de mil novecientos noventa y ocho (1998).

Impuesto de Timbre US\$ 6.00.
Derechos Consulares US\$. 100.00
Costo Total Pagado US\$. 106.00



Certificación No. 206

JOSE IGNACIO VILLEGAS CORTES
CONSUL DE COLOMBIA
LA HAYA

TRADUCCION No. 18.11/98
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

[Handwritten signature]
300803

90 NOV 19 11:56

RECEIVED LEGALIZACIONES
QUE PAGOTA D.C.

NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE
HAGO CONSTAR QUE ESTA COPIA
CONCIDE CON EL ORIGINAL QUE
VI LA VISTA

09 NOV 2000

JUAN MANUEL BOTERO MEDINA
NOTARIO

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

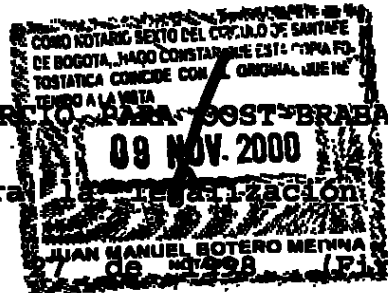
42

TRADUCCIÓN FICIAL No. 18.11/98 preparada por María Elvira Martelo, Traductora Oficial debidamente aprobada por el Ministerio de Justicia de Colombia por Resolución 2879 de 1995 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

(A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento escrito en inglés y español, por el cual AKZO NOBEL N.V. otorga poder a EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Y GERMAN CAVELIER).. Dado y firmado el 6 de agosto de 1998. (Firma ilegible) F.G.M. Hermans, Director de Patentes Farmacéuticas. (Firma ilegible) E.H. Reerink, Subdirector de Asuntos Jurídicos. (Sello Corporativo) AKZO NOBEL N.V.

(Al dorso) Visto por mí, Sr. Martinus Petrus Maria Philips, notario público en Oss, Países Bajos, hoy 26 de agosto de 1998, para legalización de las firmas de F.G.M. Hermans y E.H. Reerink. (Firma ilegible).

(Legalización) CAMARA DE INDUSTRIA Y COMERCIO PARA GOST-BRABANT (PAÍSES BAJOS). Visto exclusivamente para la legalización de la(s) firma(s) que antecede(n). Agosto 27 de 1998. (Firma ilegible) J. Schellenkens.



(Sello en holandés).

(En español) Certificación de las firmas que anteceden y de la existencia legal de AKZO NOBEL N.V. expedida por el Consulado de Colombia en La Haya el día 6 de noviembre de 1998, baj el N .

206. Firmado JOSE IGNACIO VILLEGAS CORTES, Cónsul de Colombia, La Haya. Pagado impuesto de timbre.

(Al dorso) Legalización de la firma que antecede expedida por el MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES bajo el No. 300803 del 19 de NOVIEMBRE de 1998, firmado por el Jefe de Legalizaciones.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

COLO 11214-801-001-3

Id. 6

Nov. 20/98

Maria E. Martelo
TRADUCCION No. 11198
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LAS ANTERIORES FIRMAS FUERON IDENTIFICADAS CON C.C. No.(s) *[Firma]* ES SON AUTENTICA(S) SANTA FE DE BOGOTA, 23 NOV. 1998

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE ESTA COPIA FOTOSTANCA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE ME TENGO A LA VISTA

09 NOV 2000

JUAN MANUEL BOTERO MEDINA
NOTARIO

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

198457

Maria E. Martelo

CUNA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPENA LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 NOV 24 PM 12:06

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

Nota:
Se sacó folio 51 para publicación.



**Europäisches
Patentamt**

**European
Patent Office**

**Office européen
des brevets**

32
49

0

Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterla-
gen stimmen mit der
ursprünglich eingereichten
Fassung der auf dem näch-
sten Blatt bezeichneten
europäischen Patentanmel-
dung überein.

The attached documents
are exact copies of the
European patent application
described on the following
page, as originally filed.

Les documents fixés à
cette attestation sont
conformes à la version
initialement déposée de
la demande de brevet
européen spécifiée à la
page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

99309558.7

**Der Präsident des Europäischen Patentamts;
Im Auftrag**

For the President of the European Patent Office

**Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.**

I.L.C. HATTEN-HECKMAN

**DEN HAAG, DEN
THE HAGUE, 13/11/00
LA HAYE, LE**

EPA/EPO/OEB Form 1014 - 02.91



**Europäisches
Patentamt**

**European
Patent Office**

**Office européen
des brevets**

53
50

**Blatt 2 der Bescheinigung
Sheet 2 of the certificate
Page 2 de l'attestation**

Anmeldung Nr.:
Application no.:
Demande n°: **99309558.7**

Anmeldetag:
Date of filing:
Date de dépôt: **29/11/99** ✓

Anmelder:
Applicant(s):
Demandeur(s):
**Akzo Nobel N.V.
6824 BN Arnhem
NETHERLANDS**

Bezeichnung der Erfindung:
Title of the invention:
Titre de l'invention:
6-mercapto-cyclodextrin derivatives: reversal agents for drug-induced neuromuscular block

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s) revendiquée(s)

Staat: State: Pays:	Tag: Date: Date:	Anmeldenummer: File no. Numéro de dépôt:
---------------------------	------------------------	--

Internationale Patentklassifikation:
International Patent classification:
Classification internationale des brevets:
C08B37/16, A61K31/724

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten:
Contracting states designated at date of filing: **AT/BE/CH/CY/DE/DK/ES/FI/FR/GB/GR/IE/IT/LU/LU/MC/NL/PT/SE/TR**
Etats contractants désignés lors du dépôt:

Bemerkungen:
Remarks:
Remarques:

51

6-Mercapto-Cyclodextrin Derivatives: **Reversal Agents for Drug-Induced Neuromuscular Block.**

The invention relates to 6-mercapto-cyclodextrin derivatives, to their use for the preparation of a medicament for the reversal of drug-induced neuromuscular block, and to a kit for providing neuromuscular block and its reversal.

A neuromuscular blocking agent (NMBA, also called a *muscle relaxant*) is routinely used during the administration of anaesthesia to facilitate endotracheal intubation and to allow surgical access to body cavities, in particular the abdomen and thorax, without hindrance from voluntary or reflex muscle movement. NMBAs are also used in the care of critically-ill patients undergoing intensive therapy, to facilitate compliance with mechanical ventilation when sedation and analgesia alone have proved inadequate, and to prevent the violent muscle movements that are associated with electroconvulsive therapy treatment.

Based on their mechanisms of action, NMBAs are divided into two categories: depolarizing and non-depolarizing. Depolarizing neuromuscular blocking agents bind to nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) at the neuromuscular junction in a way similar to that of the endogenous neurotransmitter acetylcholine. They stimulate an initial opening of the ion channel, producing contractions known as fasciculations. However, since these drugs are broken down only relatively slowly by cholinesterase enzymes, compared to the very rapid hydrolysis of acetylcholine by acetylcholinesterases, they bind for a much longer period than acetylcholine, causing persistent depolarization of the end-plate and hence a neuromuscular block. Succinylcholine (suxamethonium) is the best known example of a depolarizing NMBA.

Non-depolarizing neuromuscular blocking agents compete with acetylcholine for binding to muscle nAChRs, but unlike depolarizing NMBAs, they do not

activate the channel. They block the activation of the channel by acetylcholine and hence prevent cell membrane depolarization, and as a result, the muscle will become flaccid. Most of the clinically-used NMBA's belong to the non-depolarizing category. These include tubocurarine, atracurium, (cis)atracurium, mivacurium, pancuronium, vecuronium, rocuronium and rapacuronium (Org 9487).

At the end of surgery or a period of intensive care, a reversal agent of NMBA's is often given to the patient to assist the recovery of muscle function. Most commonly used reversal agents are inhibitors of acetylcholinesterase (AChE), such as neostigmine, edrophonium and pyridostigmine. Because the mechanism of action of these drugs is to increase the level of acetylcholine at the neuromuscular junction by inhibiting the breakdown of acetylcholine, they are not suitable for reversal of depolarizing NMBA's such as succinylcholine. The use of AChE inhibitors as reversal agents leads to problems with selectivity, since neurotransmission to all synapses (both somatic and autonomic) involving the neurotransmitter acetylcholine is potentiated by these agents. This non-selectivity may lead to many side-effects due to the non-selective activation of muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors, including bradycardia, hypotension, increased salivation, nausea, vomiting, abdominal cramps, diarrhoea and bronchoconstriction. Therefore in practice, these agents can be used only after or together with the administration of atropine (or glycopyrrolate) to antagonize the muscarinic effects of acetylcholine at the muscarinic receptors in the autonomic parasympathetic neuro-effector junctions (e.g. the heart). The use of a muscarinic acetylcholine receptor (mAChR) antagonist such as atropine causes a number of side-effects, e.g., tachycardia, dry mouth, blurred vision, difficulties in emptying the bladder and furthermore may affect cardiac conduction.

A further problem with anticholinesterase agents is that residual neuromuscular activity must be present (>10 % twitch activity) to allow the rapid recovery of neuromuscular function. Occasionally, either due to hypersensitivity of the patient or accidental overdose, administration of NMBA's can

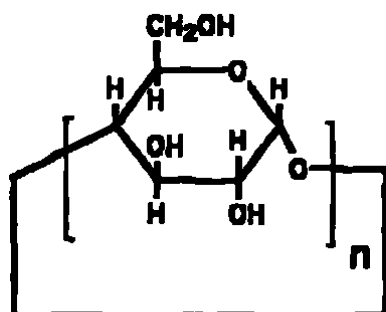
55
52

cause complete and prolonged block of neuromuscular function ("profound block"). At present, there is no reliable treatment to reverse such a 'profound block'. Attempts to overcome a 'profound block' with high doses of AChE inhibitors has the risk of inducing a "cholinergic crisis", resulting in a broad range of symptoms related to enhanced stimulation of nicotinic and muscarinic receptors.

In European Patent Application 99,306,411 (AKZO NOBEL N.V.) the use of chemical chelators (or sequestrants) as reversal agents has been disclosed.

Chemical chelators capable of forming a guest-host complex for the manufacture of a medicament for the reversal of drug-induced neuromuscular block were described. The use of chemical chelators as reversal agents for NMBA's has the advantage that they are effective in reversing the action of both depolarizing and non-depolarizing NMBA's. Their use does not increase the level of acetylcholine and therefore they produce fewer side effects and none associated with the stimulation of muscarinic and nicotinic receptors seen with the AChE reversal agents. In addition, there is no need for the combined use of an AChE inhibitor and a mAChR antagonist (e.g., atropine), while the chemical chelators may further be safely employed for the reversal of 'profound block'. Examples of such chemical chelators, as disclosed in EP 99,306,411, were selected from various classes of, mostly cyclic, organic compounds which are known for their ability to form inclusion complexes with various organic compounds in aqueous solution, e.g. cyclic oligosaccharides, cyclophanes, cyclic peptides, calixarenes, crown ethers and aza crown ethers.

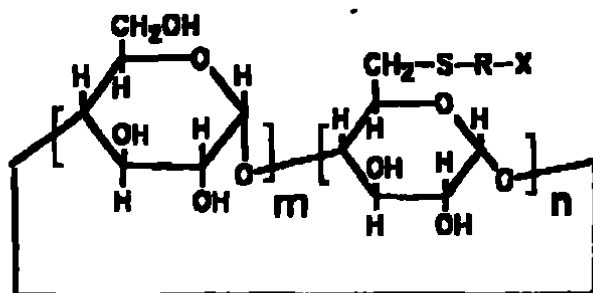
The cyclodextrins



$n = 6 - 9$

a class of cyclic molecules containing six or more α -D-glucopyranose units linked at the 1,4 positions by α -linkages as in amylose, and derivatives thereof were identified in EP 99306411 as particularly useful in the reversal of many of the commonly used neuromuscular blocking agents, or muscle relaxants, such as rocuronium, pancuronium, vecuronium, rapacuronium, mivacurium, atracurium, (cis)atracurium, succinylcholine and tubocurarine.

- 1) It has now been found that 6-mercapto-cyclodextrin derivatives having the general formula I



Formula I

wherein m is 0-7 and n is 1-8 and $m+n = 7$ or 8;

1. X is $COOH$, OH or $CONHCH_3$;

R is (C_{1-4}) alkylene or $(CH_2)_p$ -phenylene- $(CH_2)_p$;

o and p are independently 0-4; or a pharmaceutically acceptable salt thereof; are highly active *in vivo* in the reversal of the action of neuromuscular blocking agents.

2)

No protection *per se* is sought for the following 6-mercapto-cyclodextrin derivatives:

6-per-deoxy-6-per-(2-hydroxyethylthio)- β -cyclodextrin and
6-per-deoxy-6-per-(2-hydroxyethylthio)- γ -cyclodextrin, which are described by

- 5 Ling, C. and Darcy, R. (J. Chem. Soc. Chem comm. 1993, (2), 203-205);
6-mono-deoxy-6-mono-(2-hydroxyethylthio)- β -cyclodextrin, which is disclosed
by Fujita, K. et al. (Tetr. Letters 21, 1541-1544, 1980);

6-per-deoxy-6-per-(carboxymethylthio)- β -cyclodextrin, which is described by
Guillo, F. et al. (Bull. Chem. Soc. Chim. Fr. 132 (8), 857-866, 1995);

- 10 6-mono-deoxy-6-mono-(carboxymethylthio)- β -cyclodextrin, which is described
by Aldike, T. et al. (Chem. Lett. 1994 (6), 1089-1092);

6A,6B-dideoxy-6A,6B-bis[(o-carboxyphenyl)thio]- β -cyclodextrin and
6A,6B-dideoxy-6A,6B-bis(carboxymethylthio)- β -cyclodextrin, which are
described by Tubashi, I. Et al. (J. Am. Chem. Soc. 108, 4514-4518, 1986).

- 15 These prior art 6-mercapto-cyclodextrin derivatives have been described in
relation with different utilities in each instance.

However, the above mentioned 6-mercapto-cyclodextrin derivatives do
belong to the main aspect of the present invention which relates to the use of
20 a 6-mercapto-cyclodextrin derivative according to the general formula I for the
manufacture of a medicament for the reversal of drug-induced neuromuscular
block.

- The term (C₁₋₆)alkylene as used in the definition of formula I means a
2: branched or straight chain bivalent carbon radical containing 1-6 carbon
atoms, such as methylene, ethylene (1,2-ethandiyl), propylene (1-methyl-1,2-
ethandiyl), 1,3-propanediyl, 1,4-butanediyl, 1,5-pentandiyl and 1,6-
hexandiyl.

- The term phenylene means a bivalent moiety the free valencies of which can
30 be positioned either ortho, meta or para to one another.

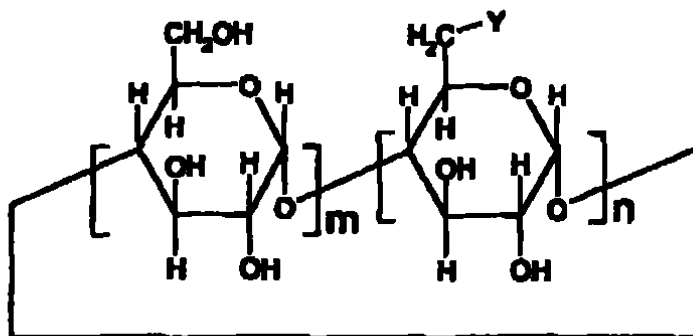
Compounds according to formula I wherein n+m is 7 are derivatives of β -
cyclodextrin, those wherein n+m is 8 are derived from γ -cyclodextrin.

Preferred are the 6-mercapto-cyclodextrin derivatives wherein X is COOH, or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

More preferred are the 6-mercapto- γ -cyclodextrin derivatives of formula I wherein n is 8, R is (C₁₋₆)alkylene and X is COOH.

5

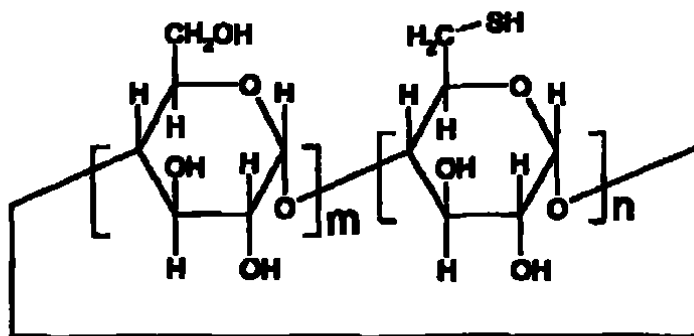
The 6-mercapto- γ -cyclodextrin derivatives of formula I can be prepared by reacting a C6 activated γ -cyclodextrin derivative of formula II with an alkylthiol, arylalkylthiol or arylthiol in the presence of an inorganic or organic base.



10 Formula II wherein m is 0-7, n is 1-8, m+n = 7 or 8 and Y is a leaving group which can be a halide (Cl, Br or I), sulfuric ester or a sulfonic ester function.

Conversely the 6-mercapto- γ -cyclodextrin derivatives of formula I can also be prepared by reacting a 6-thiol γ -cyclodextrin derivative of formula III with an alkylating agent, e.g., alkyl halide, arylalkyl halide, alkyl sulfonate, arylalkyl sulfonate etc., or a double bond containing reagent, e.g., vinyl alkane, acrylate, etc., or an epoxide in the presence of an inorganic or organic base.

15



20

Formula III wherein m is 0-7, n is 1-8, m+n = 7 or 8.

57
54

Pharmaceutically acceptable salts of 6-mercapto-cyclodextrin derivatives of formula I wherein X represents the carboxylic acid group COOH, may be obtained by treating the acid with an organic base or a mineral base, like sodium-, potassium- or lithium hydroxide.

5

The 6-mercapto-cyclodextrin derivatives for use in the invention are administered parenterally. The injection route can be intravenous, subcutaneous, intradermal, intramuscular, or intra-arterial. The intravenous route is the preferred one. The exact dose to be used will necessarily be dependent upon the needs of the individual subject to whom the medicament is being administered, the degree of muscular activity to be restored and the judgement of the anaesthetist/critical-care specialist. Extracorporeal application of the chemical chelators of the invention, for instance by mixing of the chemical chelator with the blood during dialysis or during plasmapheresis, is also contemplated.

10

In a further aspect the invention relates to a kit for providing neuromuscular block and its reversal comprising (a) a neuromuscular blocking agent, and (b) a 6-mercapto-cyclodextrin derivative according to general formula I capable of forming a guest-host complex with the neuromuscular blocking agent. With a kit according to the invention is meant a formulation, which contains separate pharmaceutical preparations, i.e. the neuromuscular blocking agent and a 6-mercapto-cyclodextrin derivative of formula I, i.e. the reversal agent. The components of such a kit of parts are to be used sequentially, i.e. the neuromuscular blocking agent is administered to a subject in need thereof, which is followed, at a point in time when restoration of muscle function is required, by the administration of the reversal agent, i.e. a 6-mercapto-cyclodextrin derivative of the present invention.

20

25

A preferred kit, according to the invention, contains a 6-mercapto-cyclodextrin derivative of formula I and a neuromuscular blocking agent which is selected from the group consisting of rocuronium, vecuronium, pancuronium,

30

rapacuronium, mivacurium, atracurium, (cis)atracurium, tubocurarine and succinylcholine. A particularly preferred kit of the invention comprises rocuronium as the neuromuscular blocking agent.

- 5 Mixed with pharmaceutically suitable auxiliaries and pharmaceutically suitable liquids, e.g. as described in the standard reference, Gennaro et al., Remington's Pharmaceutical Sciences, (18th ed., Mack Publishing Company, 1990, Part 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture; see especially Chapter 84 on "Parenteral preparations, pp. 1545-1568; and
10 Chapter 85 on "Intravenous admixtures", pp. 1570-1580) the 6-mercaptopurine derivatives can be applied in the form of a solution, e.g. for use as an injection preparation.

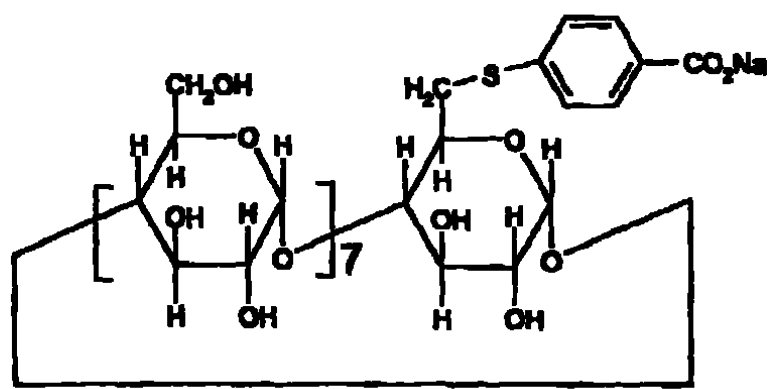
- Alternatively, the pharmaceutical composition may be presented in unit-dose
15 or multi-dose containers, for example sealed vials and ampoules, and may be stored in a freeze dried (lyophilised) condition requiring only the addition of the sterile liquid carrier, for example, water prior to use.

- The invention further includes a pharmaceutical formulation, as hereinbefore
20 described, in combination with packaging material suitable for said composition, said packaging material including instructions for the use of the composition for the use as hereinbefore described.

The invention is illustrated in the following examples.

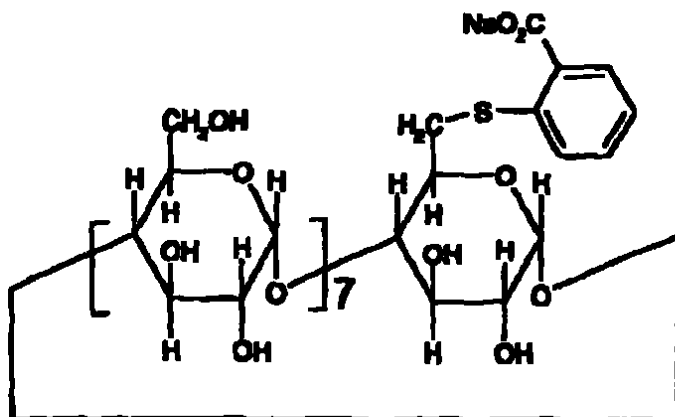
Example 1

6-Mono-deoxy-6-mono-(4-carboxyphenyl)thio- γ -cyclodextrin sodium salt



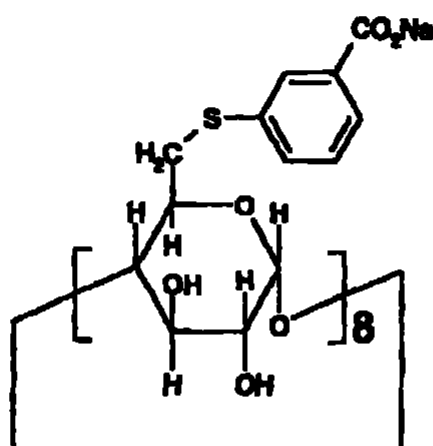
To a round bottom flask containing pyridine (120 ml) was added dry γ -cyclodextrin (2.0 g, 1.54 mmol) under nitrogen at room temperature. After dissolution, 2-naphthalenesulfonyl chloride (1.05 g, 4.64 mmol) in pyridine (20 ml) was added and the mixture stirred for 24 h. Quenched with water (50 ml) and evaporated to dryness to leave crude 6-mono-O-(2'-naphthalenesulfonyl)- γ -cyclodextrin.

Sodium hydride (0.38g, 15.83mmol) was suspended in dry dimethylformamide (20ml). 4-Mercaptobenzoic acid (0.7g, 4.55mmol) was then added to the suspension and the resulting mixture was stirred for 20 minutes. γ -Cyclodextrin nosylate (3.2g, 2.12mmol) was added to the mixture and the reaction was heated to 100°C for 90 minutes. After cooling, acetone was added to precipitate a solid, which was reprecipitated from water/acetone. This was then dissolved in water (20ml), pH adjusted to 7.0 by adding 2N hydrochloric acid, then chromatographed on a Sephadex DEAE A-25 column. Appropriate fractions were combined, dialysed, then precipitated, twice from water/acetone to give 400mg of the titled compound. ¹H NMR in DMSO δ 7.4 to 7.8 (ArH), 5.0 to 5.2 (8 H), 4.13 (1 H), 3.7 to 4.0 (29 H), 3.7 to 3.4 (17 H), 3.25 (1 H) ppm. ¹³C NMR in DMSO δ 129.9 and 127.5 (ArC), 103.3 and 102.9 (C1 and C1'), 85.0 (C 4'), 81.6 (C 4), 73.8 (C 3), 73.5 (C 2), 72.2 (C 5), 70.8(C 5'), 60.6 (C 6), 34.3 (C 6') ppm. Electrospray MS [M+H]⁺ = 1455.7 and [M+Na]⁺ = 1477.7.

Example 2.**6-Mono-deoxy-6-mono-(2-carboxyphenylthio)- γ -cyclodextrin sodium salt**

Sodium hydride (60 % dispersed in oil, 0.18 g, 4.5 mmol) was added to
 : thioacetic acid (0.34 g, 2.2 mmol) in DMF (25 ml) in one portion and stirred
 at room temperature for 30 min. To this was then added the crude solution of
 6-mono-O-(2'-naphthalenesulfonyl)- γ -cyclodextrin (2.5 g, 1.45 mmol) in DMF
 (15 ml) and heated to 70 °C for 24 h. The mixture was cooled and quenched
 with water (20 ml) before evaporating to dryness. Water was then added to
 10 the residue and the resulting solution was poured into acetone (250 ml) to
 effect precipitation. The resulting solid was collected by filtration and
 dissolved in water (10 ml) before passing through a Sephadex DEAE A-25
 column eluting with water then 0.2 N NaOH. Fractions containing the product
 were combined and evaporated to a low volume and dialysed (MWCO 1000)
 15 by changing the external water four times. Internal solution was evaporated to
 low volume and poured into acetone (100 ml). Solid was collected by filtration
 and dried under vacuum at 70 °C to leave the title compound (235 mg) as a
 white solid. ¹H NMR (D₂O) δ 7.50-7.10 (4 H, m, Ar-H), 5.14 (8 H, m, CyD 1-H),
 4.16 (1 H, m, CyD 5-H), 3.98-3.85 (26 H, m, CyD 3,5,2,4,-H), 3.70-3.61 (20 H,
 20 m, CyD 2,3,4,6-H), 3.15 (1 H, m, CyD 6-H) ppm; Electrospray MS *m/z* 1477.6
 for [M+Na]⁺, calcd for C₃₈H₄₀NaO₈S M 1455.304.

Example 3.**6-per-deoxy-6-per-(3-carboxyphenylthio)- γ -cyclodextrin sodium salt**



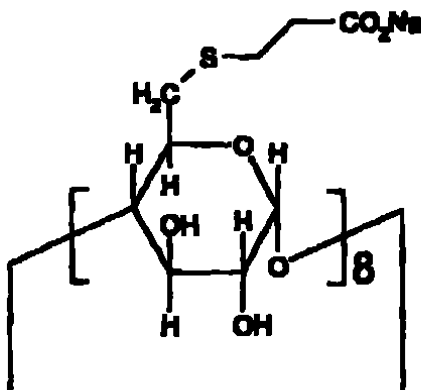
Triphenylphosphine (30.1 g, 15 eq) was dissolved with stirring in dry DMF (160 ml). To this was added iodine (30.5 g, 15.6 eq) over 10 min. with heat evolved. Dry γ -cyclodextrin (10 g, 7.7 mmol) was then added and the mixture was heated to 70 °C for 24 h. The mixture was allowed to cool, to which sodium methoxide (3.1 g sodium in 50 ml methanol) was added and the mixture was stirred for 30 min. before pouring onto methanol (800 ml) and evaporating to dryness. To the residue was added water (500 ml) and the solid was collected by filtration and washed with water (3x100 ml), then acetone (3x100 ml), and dried under vacuum at 70 °C to give 6-per-deoxy-6-per-iodo- γ -cyclodextrin as a yellow solid (16.2 g) which was used without further purification.

To a solution of 3-mercaptobenzoic acid (1.0 g, 10 eq) in DMF (30 ml) was added 60% sodium hydride dispersed in oil (476 mg, 22 eq) portionwise over 30 min. The mixture was cooled and 6-per-deoxy-6-per-iodo- γ -cyclodextrin (1.4 g) in DMF (30 ml) was added. The mixture was then stirred at 70 °C for 24 h. The mixture was allowed to cool to room temperature and quenched with the addition of water (20 ml) before evaporating to a low volume. The solution was poured into acetone (500 ml) and the precipitate was collected by filtration, dissolved in water (20 ml) and dialysed (MWCO 1000) by changing the external water four times. Internal solution was evaporated to low volume and poured into acetone (250 ml). The solid precipitate was collected by filtration and dried under vacuum at 70 °C to afford the title compound (1.45 g) as a white solid: ^1H NMR (D_2O) δ 7.77 (8 H, br s, Ar-H), 7.55 (8 H, d, J = 8.0 Hz, Ar-H), 7.71 (16 H, m, Ar-H), 5.16 (8 H, s, CyD 1-H),

4.00-3.94 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3.58-3.53 (16 H, m, CyD 4,2-H), 3.43-3.40 (8 H, m, CyD 6-H), 3.24-3.20 (8 H, m, CyD 6-H); Electrospray m/z 1190.6 for $[M-8Na+6H]^+$, calcd for $C_{104}H_{104}Na_8O_{48}S_8$, M 2562.39.

Example 4.

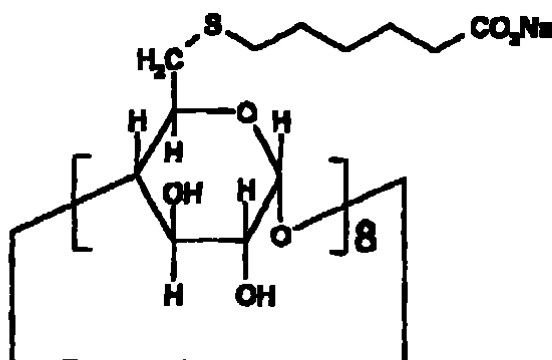
6-Per-deoxy-6-per-(2-carboxyethylthio)- γ -cyclodextrin sodium salt



3-Mercaptopropionic acid (1.22 ml, 14.0 mmol) was dissolved in dry DMF (45 ml) under N_2 at room temperature. To this solution was added in three portions sodium hydride (1.23 g, 30.8 mmol, 60%) and the mixture was stirred for a further 30 min. To this mixture was then added dropwise a solution of 6-per-deoxy-6-per-iodo- γ -cyclodextrin (3.12 g, 1.40 mmol) in 45 ml dry DMF. After addition, the reaction mixture was heated at 70 °C for 12 h. After cooling, water (10 ml) was added to the mixture and the volume was reduced to 40 ml *in vacuo*, to which ethanol (250 ml) was added resulting in precipitation. The solid precipitate was collected by filtration and dialysed for 36 h. The volume was then reduced to 20 ml *in vacuo*. To this was added ethanol, and the precipitate was collected by filtration and dried to give the title compound as a white solid (1.3 g, 49%). 1H -NMR D_2O δ 2.47-2.51 (m, 16H); 2.84-2.88 (m, 16H); 3.00-3.02 (t, 8H); 3.11-3.14 (t, 8H); 3.62-3.68 (m, 16H); 3.92-3.97 (m, 8H); 4.04-4.06 (m, 8H); 5.19 (m, 8H) ppm. MS FIA +Ion at 2024.9 m/z .

Example 5.

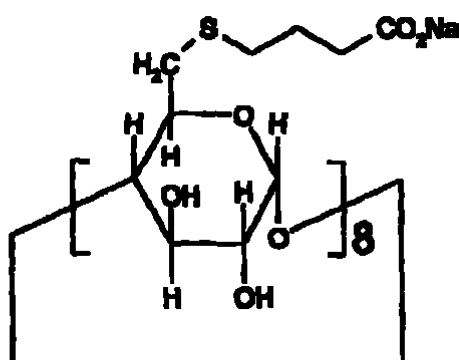
6-Per-deoxy-6-per-(5-carboxypentylthio)- γ -cyclodextrin sodium salt



The title compound was prepared in a similar way as described for Example 4 by reacting 6-mercaptohexanoic acid (1.34 g, 0.90 mmol) with 6-per-deoxy-6-per-iodo- γ -cyclodextrin. $^1\text{H-NMR}$ D_2O δ 1.40 (s, 16H); 1.57-1.64 (m, 32H); 2.17-2.21 (m, 16H); 2.67-3.00 (m, 16H); 2.85-2.90 (m, 8H); 3.15-3.20 (m, 8H); 3.52-3.59 (m, 8H); 3.60-3.63 (m, 8H); 3.87-3.93 (m, 16H); 5.16 (s, 8H) ppm. MS FIA +ions at 2362.2, 2213, 2065 and 1919 m/z .

Example 6.

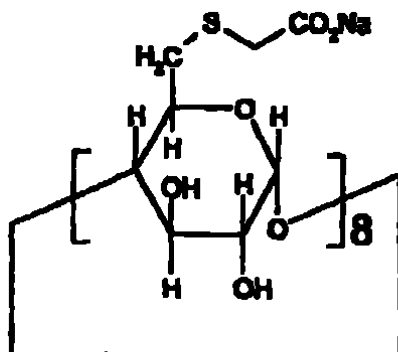
10 6-Per-deoxy-6-per-(3-carboxypropylthio)- γ -cyclodextrin sodium salt



The title compound was prepared in a similar way as described for Example 4 by reacting 4-mercaptobutyric acid (1.10 g, 0.009 mol) with 6-per-deoxy-6-per-iodo- γ -cyclodextrin. $^1\text{H-NMR}$ D_2O δ 1.87-1.88 (m, 16H); 2.27-2.30 (m, 16H); 2.67-2.71 (m, 16H); 2.98-3.00 (m, 8H); 3.13-3.16 (m, 8H); 3.61-3.63 (m, 16H); 3.94-4.03 (m, 16H); 5.21 (s, 8H) ppm. MS FIA +ion at 2138.8 m/z .

Example 7.

20 6-Per-deoxy-6-per-carboxymethylthio- γ -cyclodextrin sodium salt



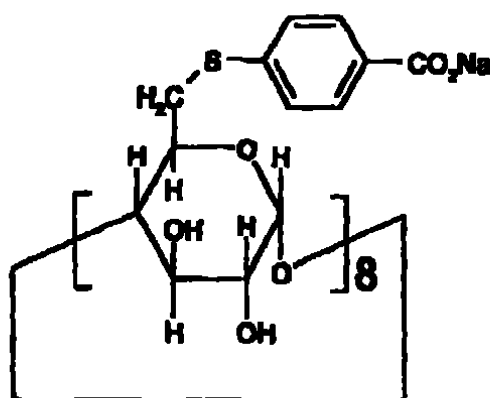
Sodium hydride (60% dispersion, 0.34g, 8.80mmol) was added to a stirred solution of ethyl 2-mercaptoacetate (0.92ml, 8.40mmol) in DMF (20 ml) under nitrogen at room temperature. After effervescence had ceased (15 min), per-6-deoxy-per-6-iodo-γ-cyclodextrin (2.17g, 1.00mmol) was added to the system. After a further 5 min, the temperature was raised to 70°C and the reaction was left with stirring for 17h. After cooling, DMF was removed *in vacuo*. Methanol (50ml) was added and a creamy white solid slowly crystallised out of solution. This was filtered off under suction, washed with methanol and dried to give 6-per-deoxy-6-per-carbomethoxymethylthio-γ-cyclodextrin as a solid (1.74g, 82%). $\delta_{\text{H}}(\text{d6-dmsO})$ 4.85-4.85 (8H, m, 8 x anomeric CH), 4.05 (16H, q, 8 x CH_2CH_2), 3.85-3.75 (8H, m), 3.60-3.50 (8H, m), 3.40-3.20 (32H, bs, 8 x CH_2SCH_2), 3.20-3.10 (8H, m), 2.95-2.85 (8H, m), 1.20 (24H, t, 8 x CH_2CH_3).

To 1 M solution of sodium hydroxide (7 ml) was added 6-per-deoxy-6-per-carbomethoxymethylthio-γ-cyclodextrin (1.00g, 0.47mmol) and the reaction was allowed to stir at room temperature. After 18h, the clear solution was dialysed for 8h, with water (2L) being replaced every 2h. After this time, the contents of the dialysis tubing was emptied into a flask and water evaporated *in vacuo*, giving the title compound as a white solid (0.62g, 64%). $\delta_{\text{H}}(\text{D}_2\text{O})$ 5.21 (8H, d, 8 x anomeric CH), 4.18-4.05 (8H, m), 4.00 (8H, dd), 3.78 (8H, dd), 3.70 (8H, dd), 3.40 (16H, dd), 3.20 (8H, d), 3.02 (8H, dd). $\delta_{\text{C}}(\text{D}_2\text{O})$ 178.1, 101.6, 82.8, 73.0, 72.7, 71.8, 39.0, 34.1 LC/MS TOF 1889 m/z

Example 8.

6-Per-deoxy-6-per-(4-carboxyphenyl)thio-γ-cyclodextrin sodium salt

58

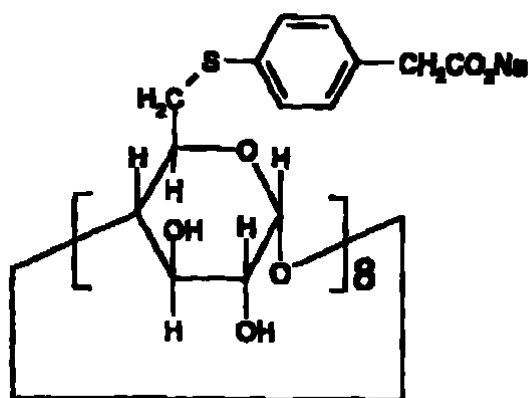


To a solution of 4-mercaptobenzolic acid (856 mg) in DMF (30 ml) was added 60% sodium hydride dispersed in oil (372 mg) portionwise over 30 min. The mixture was cooled and per-6-bromo- γ -cyclodextrin (1.0 g) was added in one portion and the mixture was stirred at 70 °C for 24 h. The mixture was allowed to cool to room temperature and quenched with the addition of water (20 ml) before evaporating to a low volume. The solution was poured into ethanol (250 ml) and the precipitate was collected by filtration, dissolved in water (20 ml) and dialysed (MWCO 1000) by changing the external water four times. Internal solution was evaporated to low volume and poured into acetone (250 ml). The solid precipitate was collected by filtration and dried under vacuum at 70 °C to afford the title compound (1.2 g) as a white solid.

¹H NMR (D₂O, 343K) δ 7.70 (16 H, d, J = 8.1 Hz, Ar-H), 7.23 (16 H, d, J = 7.3 Hz, Ar-H), 5.15 (8 H, s, CyD 1-H), 4.00-3.96 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3.55-3.53 (24 H, m, CyD 6',4,2-H), 3.15 (8 H, m, CyD 6-H); MALDI-TOF m/z 2383.7 for [M-Na₃+H₃], calcd for C₁₀₄H₁₀₄Na₃O₄₈S₃ M 2582.39.

Example 9.

6-Per-deoxy-6-per-(4-carboxymethylphenyl)thio- γ -cyclodextrin sodium salt



To a solution of 4-mercaptophenylacetic acid (10 eq) in DMF (50 ml) was added 60% sodium hydride in oil (22 eq) portionwise over 30 min. The mixture was cooled and per-6-bromo- γ -cyclodextrin (1.0 g) was added in one portion and the mixture was stirred at 70 °C for 24 h. The mixture was allowed to cool to room temperature and quenched with the addition of water (20 ml) before evaporating to a low volume. The solution was then poured into acetone (250 ml) and the precipitate was collected by filtration, suspended in water (20 ml) and dialysed (MWCO 1000) by changing the external water four times. Internal solution was evaporated to low volume and poured into acetone (250 ml). The solid precipitate was collected by filtration and dried under vacuum at 70 °C to afford the title compound (1.44 g) as a white solid. ¹H NMR (D₂O, 343K) δ 7.15 (16 H, d, J = 8.0 Hz, Ar-H), 6.99 (16 H, d, J = 8.0 Hz, Ar-H), 4.98 (8 H, s, CyD 1-H), 3.90-3.72 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3.51-3.43 (16 H, m, CyD 4,2-H), 3.28 (24 H, m, CH₂-Ar, CyD 6'-H), 3.15-3.10 (1 H, m, CyD 6-H); MALDI-TOF m/z 2495.8 for [M-Na₂+H₂], calcd for C₁₁₂H₁₂₈Na₂O₄₈S₂, M 2674.8.

Example 10.

Reversal of neuromuscular blockade in anaesthetized guinea pigs *in vivo*

Male Dunkin-Hartley guinea pigs (bodyweight: 600-900 g) were anaesthetized by I.p. administration of 10 mg/kg pentobarbitone and 1000 mg/kg urethane. After tracheotomy, the animals were artificially ventilated using a Harvard small animal ventilator. A catheter was placed into the carotid artery for continuous monitoring of arterial blood pressure and the taking of

blood samples for blood gas analysis. Heart rate was derived from the blood pressure signal. The sciatic nerve was stimulated (rectangular pulses of 0.5 ms duration at 10 s (0.1 Hz) intervals at a supramaximal voltage, using a Grass S88 Stimulator) and the force of M. gastrocnemius contractions was measured using a Grass FT03 force-displacement transducer. Contractions, blood pressure and heart rate were recorded on a multichannel Grass 7D recorder. Catheters were placed in both jugular veins. One catheter was used for the continuous infusion of a neuromuscular blocking agent. The infusion rate of the neuromuscular blocking agent was increased until a steady-state block of 85-90% was obtained. The other catheter was used for administration of increasing doses of the reversal agent. During continuous infusion of the neuromuscular blocking agent, single doses of increasing concentration of reversal agent were given. At the end of the experiment, the measured force of muscle contractions was plotted against the concentration of reversal agent, and using regression analysis techniques, the 50% reversal concentration was calculated.

Results for the reversal of the neuromuscular block, induced by the muscle relaxants rocuronium bromide (Roc), by the 6-mercapto-cyclodextrin derivatives of Examples 1-8 are presented in Table I. For comparison, the reversal activity of the parent compounds β -cyclodextrin and γ -cyclodextrin are included as well.

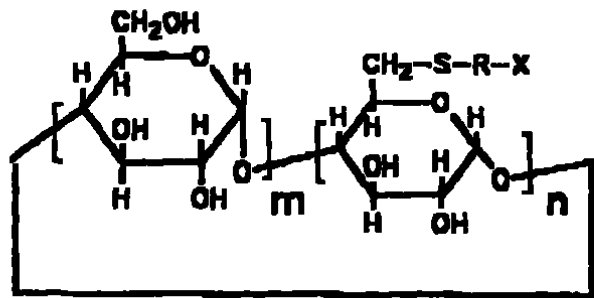
TABLE I

Dose (ED_{50} , $\mu\text{mol.kg}^{-1}$) producing 50% reversal of steady-state neuromuscular block in anaesthetized guinea pigs and concentration at maximum reversal.

Compound	ED_{50} $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	max. reversal at conc. (μ mol.kg^{-1})
γ -cyclodextrin (γ -CD)	4	
β -cyclodextrin (β -CD)	20	
6-mono-deoxy-6-mono-(4-carboxyphenyl)thio- γ -cyclodextrin, Na salt (example 1)	0.94	102 (8.0)
6-mono-deoxy-6-mono-(2-carboxyphenyl)thio- γ -cyclodextrin (example 2)	1.30	83 (11)
6-per-deoxy-6-per-(3-carboxyphenyl)thio- γ -cyclodextrin (example 3)	0.28	102 (1.28)
6-per-deoxy-6-per-(2-carboxyethyl)thio- γ -cyclodextrin, Na salt (example 4)	0.08	97 (0.53)
6-per-deoxy-6-per-(5-carboxypentyl)thio- γ -cyclodextrin, Na salt (example 5)	0.74	78 (2.5)
6-per-deoxy-6-per-(3-carboxypropyl)thio- γ -cyclodextrin, Na salt (example 6)	0.08	108 (0.48)
6-per-deoxy-6-per-carboxymethylthio- γ -cyclodextrin, Na salt (example 7)	0.21	88 (1.92)
6-per-deoxy-6-per-(4-carboxyphenyl)thio- γ -cyclodextrin, Na salt (example 8)	0.10	95 (0.48)
6-per-deoxy-6-per-(4-carboxyphenylmethyl)thio- γ -cyclodextrin, Na salt (example 9)	0.13	100 (0.50)

Claims.

1. A 6-mercapto-cyclodextrin derivative having the general formula I



Formula I

wherein m is 0-7 and n is 1-8 and $m+n = 7$ or 8 ;

X is COOH or OH ;

R is $(\text{C}_{1-4})_{\text{alkylene}}$ or $(\text{CH}_2)_p\text{-phenylene-(CH}_2)_p$;

o and p are independently 0-4; or pharmaceutically acceptable salts thereof;

with the exclusion of

6-per-deoxy-6-per-(2-hydroxyethylthio)- β -cyclodextrin;

6-mono-deoxy-6-mono-(2-hydroxyethylthio)- β -cyclodextrin;

6-per-deoxy-6-per-(2-hydroxyethylthio)- γ -cyclodextrin;

6-per-deoxy-6-per-(carboxymethylthio)- β -cyclodextrin;

6-mono-deoxy-6-mono-(carboxymethylthio)- β -cyclodextrin;

6A,6B-dideoxy-6A,6B-bis[(o -carboxyphenyl)thio]- β -cyclodextrin; and

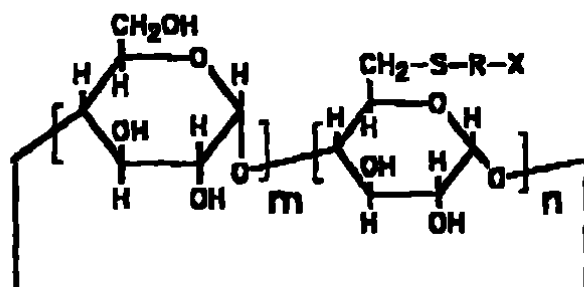
6A,6B-dideoxy-6A,6B-bis(carboxymethylthio)- β -cyclodextrin.

2. The 6-mercapto-cyclodextrin derivative according to the general formula I of claim 1 wherein X is COOH .

3. The 6-mercapto-cyclodextrin derivative according to the general formula I of claim 1 wherein X is COOH ; m is 0; n is 8; and R is $(\text{C}_{1-4})_{\text{alkylene}}$.

ABSTRACT

Disclosed is a 6-mercapto-cyclodextrin derivative having the general formula I



Formula I

wherein m is 0-7 and n is 1-8 and $m+n = 7$ or 8 ;

X is COOH or OH;

R is (C_{1-4}) alkylene or $(CH_2)_6$ -phenylene- $(CH_2)_6$;

o and p are independently 0-4; or pharmaceutically acceptable salts thereof;

The 6-mercaptocyclodextrin derivative is highly suitable for use in the reversal of drug-induced neuromuscular block.

62

TRADUCCION: Se traduce la carátula y las reivindicaciones anexas a una copia de la solicitud de patente europea Nº 99309558.7, escrita en inglés para el invento denominado: DERIVADOS DE 6MERCAPTO-CICLODEXTRINA USADOS COMO AGENTES DE REVERSIÓN PARA EL BLOQUEO NEUROMUSCULAR INDUCIDO POR FÁRMACOS.

A N E X O S

OFICINA DE PATENTES EUROPEA

Certificado

Los documentos adjuntos son copias exactas de la solicitud de patente europea descrita en la siguiente página, como fue presentada originalmente.

Solicitud de patente Nº. 99309558.7 /

Por el Presidente de la Oficina de Patentes Europea

(Firmado Ilegible)

I.L.C. HATTEN-HECKMAN

La Haya, 13/11/00

**DERIVADOS DE 6-MERCAPTO-CICLODEXTRINA:
AGENTES DE REVERSION PARA EL BLOQUEO NEUROMUSCULAR INDUCIDO
POR FARMACOS.**

La invención se refiere a derivados de 6-mercapto-ciclodextrina, a su uso en la preparación de un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos, y a un kit para proporcionar bloqueo neuromuscular y su reversión.

Un agente bloqueador neuromuscular (NMBA, también llamado "relajante muscular") se usa rutinariamente durante la administración de la anestesia para facilitar la intubación endotraqueal, y para permitir el acceso quirúrgico a las cavidades del cuerpo, en particular el abdomen y el tórax, sin obstrucciones por el movimiento muscular voluntario o reflejo. Los NMBAs también se usan en el cuidado de pacientes críticamente enfermos sometidos a terapia intensiva, para facilitar el acatamiento de la ventilación mecánica cuando la sedación y la analgesia solas han resultado inadecuadas, y para impedir los violentos movimientos musculares asociados con el tratamiento de terapia electroconvulsiva.

En base a sus mecanismos de acción, los NMBAs se dividen en dos categorías: despolarizantes y no despolarizantes. Los agentes bloqueadores neuromusculares despolarizantes se unen a los receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs) en la unión neuromuscular, de una manera similar al neurotransmisor endógeno acetilcolina. Estimulan una apertura inicial del canal iónico, produciendo

64

contracciones conocidas como fasciculaciones. Sin embargo, debido a que estos fármacos son descompuestos sólo en forma relativamente lenta por las enzimas colinesterasas, en comparación con la muy rápida hidrólisis de la acetilcolina por las acetilcolinesterasas, quedan unidos por un período mucho más largo que la acetilcolina, causando una persistente despolarización de la placa del extremo y, por lo tanto, un bloqueo neuromuscular. La succinilcolina (suxametonio) es el ejemplo más conocido de NMBA despolarizante.

Los agentes bloqueadores neuromusculares no despolarizantes compiten con la acetilcolina para unirse a los nAChRs del músculo pero, a diferencia de los NMBA despolarizantes, no activan el canal. Bloquean la activación del canal por acetilcolina y así impiden la despolarización de la membrana celular y, como resultado, el músculo se vuelve flácido. La mayoría de los NMBA clínicamente usados pertenecen a la categoría no despolarizante. Estos incluyen tubocurarina, atracurio, (cis)atracurio, mivacurio, pancuronio, vecuronio, rocuronio y rapacuronio (Org 9487).

Al final de una cirugía o de un período de cuidado intensivo, frecuentemente se administra al paciente un agente de reversión de los NMBA para ayudar a la recuperación de la función muscular. Los agentes de reversión más comúnmente usados son inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE), tales como neostigmina, edrofonio y piridostigmina. Debido a que el mecanismo de acción de estos fármacos es aumentar el nivel de acetilcolina en la unión neuromuscular inhibiendo la descomposición de la acetilcolina, no son adecuados para la reversión de los NMBA despolarizantes tal como la

65

succinilcolina. El uso de inhibidores de AChE como agentes de reversión lleva a problemas con la selectividad, debido a que la neurotransmisión a todas las sinapsis (tanto somáticas como autónomas) que involucran al neurotransmisor acetilcolina, es potenciada por estos agentes. Esta falta de selectividad puede llevar a muchos efectos secundarios debido a la activación no selectiva de los receptores de acetilcolina muscarínicos y nicotínicos, incluyendo bradicardia, hipotensión, salivación aumentada, náusea, vómitos, calambres abdominales, diarrea y broncoconstricción. Por lo tanto en la práctica, estos agentes pueden usarse solamente después de o junto con la administración de atropina (o glicopirrolato), para antagonizar los efectos muscarínicos de la acetilcolina en los receptores muscarínicos en las uniones de neuroefectores parasimpáticos autónomos (por ejemplo el corazón). El uso de un antagonista de receptor de acetilcolina muscarínico (mAChR), tal como atropina, causa un número de efectos secundarios, por ejemplo taquicardia, boca seca, visión borrosa, dificultades para vaciar la vejiga y además puede afectar la conducción cardíaca.

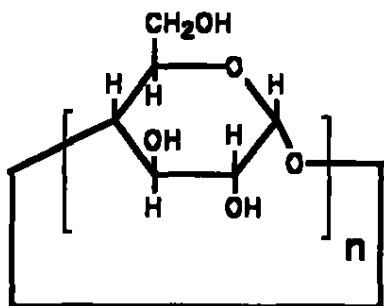
Otro problema con los agentes anticolinesterasas es que debe haber presente una actividad neuromuscular residual (>10% de actividad de espasmos) para permitir la rápida recuperación de la función neuromuscular. Ocasionalmente, ya sea debido a hipersensibilidad del paciente o sobredosis accidental, la administración de NMBAs puede causar un bloqueo completo y prolongado de la función neuromuscular ("bloqueo profundo"). Actualmente, no hay un tratamiento confiable para revertir este "bloqueo profundo". Los intentos por superar un

"bloqueo profundo" con altas dosis de inhibidores de AChE tienen el riesgo de inducir una "crisis colinérgica", que da como resultado una amplia gama de síntomas relacionados con la estimulación aumentada de los receptores muscarínicos y nicotínicos.

En la solicitud de patente europea 99.306.411 (AKZO NOBEL N.V.), se divulga el uso de quelantes (o secuestrantes) químicos como agentes de reversión. Se describen quelantes químicos capaces de formar un complejo de asociado ("guest")-huésped para la fabricación de un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos. El uso de quelantes químicos como agentes de reversión para NMBA tiene la ventaja de que son eficaces para revertir la acción de los NMBA tanto despolarizantes como no despolarizantes. Su uso no aumenta el nivel de acetilcolina y, por lo tanto, producen menos efectos secundarios y ninguno asociado con la estimulación de los receptores muscarínicos y nicotínicos que se observa con los agentes de reversión para AChE. Además, no hay necesidad del uso combinado de un inhibidor de AChE y un antagonista de mAChR (por ejemplo, atropina), en tanto que los quelantes químicos pueden además ser empleados en forma segura para la reversión del "bloqueo profundo". Ejemplos de estos quelantes químicos, descritos en la patente europea EP 99.306.411, fueron seleccionadas entre diversas clases de compuestos orgánicos, en su mayoría cíclicos, que son conocidos por su capacidad para formar complejos de inclusión con diversos compuestos orgánicos en solución acuosa, por ejemplo oligosacáridos cíclicos, ciclofanos, péptidos

cíclicos, calixarenos, éteres coronados y éteres azacoronados.

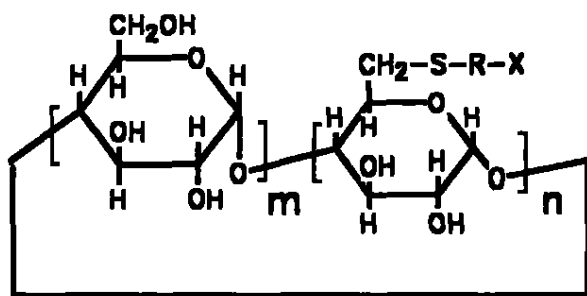
Las ciclodextrinas,



$$n = 6 - 9$$

una clase de moléculas cíclicas que contienen seis o más unidades de α -D-glucopiranosas unidas en las posiciones 1,4 por enlaces α como en la amilosa, y sus derivados, fueron identificadas en la patente EP 99.306.411 como particularmente útiles en la reversión de muchos de los agentes bloqueadores neuromusculares o relajantes musculares comúnmente usados, tales como rocuronio, pancuronio, vecuronio, rapacuronio, mivacurio, atracurio, (cis)atracurio, succinilcolina y tubocurarina.

Se ha encontrado ahora que los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina que tienen la fórmula general I:



Fórmula I

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 ;
X es COOH, OH, ó CONHCH₃;
R es (C₁₋₆)alquileo ó (CH₂)_o-fenileno-(CH₂)_p;
o, p son independientemente 0-4;
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos;
son altamente activos in vivo en la reversión de la acción de los agentes bloqueadores neuromusculares.

No se busca protección per se para los siguientes derivados de 6-mercapto-ciclodextrina:

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)- β -ciclodextrina y
6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)- γ -ciclodextrina, que
están descritos por Ling, C. y Darcy, R. (J. Chem. Soc. Chem
Comm. 1993, (2), 203-205);

6-mono-deoxi-6-mono-(2-hidroxietiltio)- β -ciclodextrina, que
está descrito por Fujita, K. y colaboradores (Tetr. Letters
21, 1541-1544, 1980);

6-per-deoxi-6-per-(carboximetiltio)- β -ciclodextrina, que está
descrito por Guillo, F. y colaboradores (Bull. Chem. Soc.
Chim. Fr. 132 (8), 857-866, 1995);

6-mono-deoxi-6-mono-(carboximetiltio)- β -ciclodextrina, que
está descrito por Akiike, T. y colaboradores (Chem. Lett. 1994
(6), 1089-1092);

6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis[(o-carboxifenil)tio]- β -ciclodextrina y
6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis(carboximetiltiol)- β -ciclodextrina, que
están descritos por Tubashi, I. y colaboradores (J. Am. Chem.
Soc. 108, 4514-4518, 1986.

Estos derivados de 6-mercapto-ciclodextrina del arte previo han sido descritos en relación con diferentes utilidades en cada caso.

Sin embargo, los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina mencionados más arriba sí pertenecen al aspecto principal de la presente invención, que se refiere al uso de un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I, para la fabricación de un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

El término (C_1-6) alquileo, como se usa en la definición de la fórmula I, significa un radical carbonado bivalente de cadena lineal o ramificada que contiene 1-6 átomos de carbono, tal como metileno, etileno (1,2-etanodilo), propileno (1-metil-1,2-etanodilo), 1,3-propanodilo, 1,4-butanodilo, 1,5-pentanodilo y 1,6-hexanodilo.

El término fenileno significa una porción bivalente cuyas valencias libres pueden estar colocadas, una con respecto a la otra, en posición orto, meta o para.

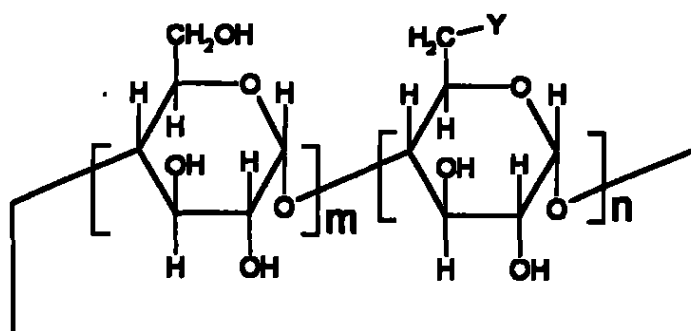
Los compuestos de acuerdo con la fórmula I donde $n+m$ es 7 son derivados de β -ciclodextrina, aquéllos donde $n+m$ es 8 son derivados de γ -ciclodextrina.

Son preferidos los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina donde X es COOH, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Más preferidos son los derivados de 6-mercapto- γ -ciclodextrina de fórmula I donde n es 8, R es (C_1-6) alquileo y X es COOH.

77
20

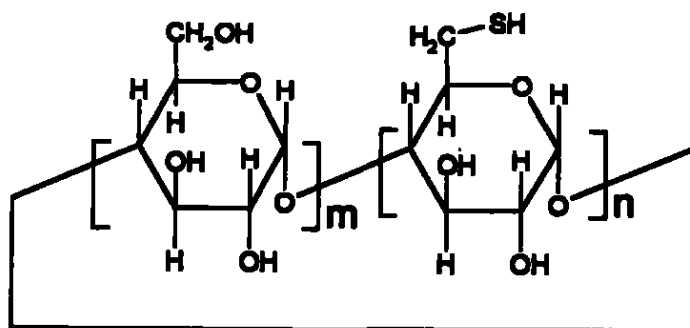
Los derivados de 6-mercapto- γ -ciclodextrina de fórmula I pueden prepararse haciendo reaccionar un derivado de γ -ciclodextrina C6-activado de fórmula II con un alquiltiol, arilalquiltiol o ariltiol, en presencia de una base inorgánica u orgánica.



Fórmula II

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 , e Y es un grupo saliente que puede ser un haluro (Cl, Br ó I), éster sulfúric o una función éster sulfónico.

A la inversa, los derivados de 6-mercapto- γ -ciclodextrina de fórmula I también pueden prepararse haciendo reaccionar un derivado de 6-tiol γ -ciclodextrina de fórmula III con un agente alquilante, por ejemplo alquil haluro, arilalquil haluro, alquil sulfonato, arilalquil sulfonato, etc., o un reactivo que contiene un doble enlace, por ejemplo vinil alcano, acrilato, etc., o un epóxido en presencia de una base inorgánica u orgánica.

25
71

Fórmula III

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I, donde X representa el grupo ácido carboxílico COOH, pueden obtenerse tratando el ácido con una base orgánica o una base mineral, tal como hidróxido de sodio, de potasio o de litio.

Los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina para el uso en la invención son administrados parenteralmente. La vía de inyección puede ser intravenosa, subcutánea, intradérmica, intramuscular o intra-arterial. La vía intravenosa es la preferida. La dosis exacta que será usada necesariamente será dependiente de las necesidades del sujeto individual a quien el medicamento está siendo administrado, el grado de actividad muscular que debe ser restablecida y el criterio del anestesista/especialista en cuidado de enfermos críticos. La aplicación extracorporal de los quelantes químicos de la invención, por ejemplo mezclando el quelante químico con la sangre durante la diálisis o durante la plasmaféresis, también está contemplada.

26
72

En otro aspecto, la invención se refiere a un kit para proporcionar bloqueo neuromuscular y su reversión que comprende (a) un agente bloqueador neuromuscular, y (b) un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I, capaz de formar un complejo de tipo asociado ("guest")-huésped con el agente bloqueador neuromuscular. Un kit de acuerdo con la invención significa una formulación que contiene preparaciones farmacéuticas separadas, esto es el agente bloqueador neuromuscular y un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I, o sea el agente de reversión. Los componentes de este kit de partes deben ser usados secuencialmente, o sea el agente bloqueador neuromuscular es administrado a un sujeto que lo necesita, lo que va seguido, en un punto del tiempo en que se requiere el restablecimiento de la función muscular, por la administración del agente de reversión, o sea un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de la presente invención.

Un kit preferido de acuerdo con la invención contiene un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de fórmula I y un agente bloqueador neuromuscular que se selecciona del grupo consistente en rocuronio, vecuronio, pancuronio, rapacuronio, mivacurio, atracurio, (cis)atracurio, tubocurarina y suxametonio. Un kit particularmente preferido de la invención comprende rocuronio como el agente bloqueador neuromuscular.

Mezclado con auxiliares farmacéuticamente adecuados y líquidos farmacéuticamente adecuados, por ejemplo como se describe en la referencia estándar Gennaro y colaboradores, Remington's Pharmaceutical Sciences, (18a Ed., Mack Publishing

Company, 1990, Parte 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture; ver especialmente Capítulo 84 sobre "Preparaciones parenterales", pp. 1545-1569; y Capítulo 85 sobre "Mezclas intravenosas", pp. 1570-1580), los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina pueden ser aplicados en la forma de una solución, por ejemplo para el uso como una preparación inyectable.

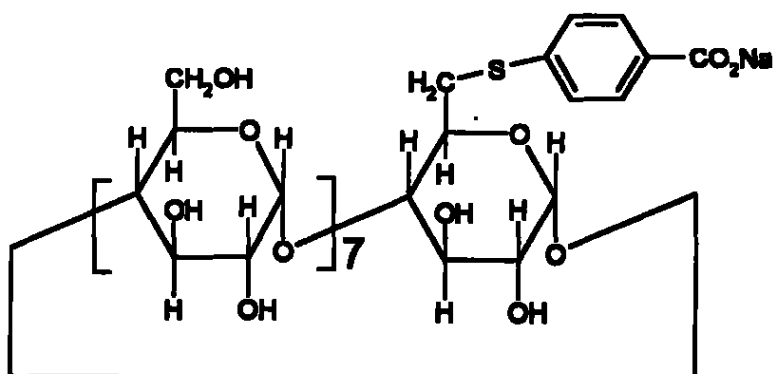
Alternativamente, la composición farmacéutica puede ser presentada en contenedores de dosis unitaria o multi-dosis, por ejemplo frascos sellados y ampollas, y puede ser almacenada en una condición secada por congelación (liofilizada) requiriendo sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua, antes del uso.

La invención además incluye una formulación farmacéutica, como se describió anteriormente, en combinación con un material de envase adecuado para dicha composición, dicho material de envase incluyendo instrucciones para el uso de la composición descrito anteriormente.

La invención se ilustra en los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

6-Mono-deoxi-6-mono-(4-carboxifenil)tio-γ-ciclodextrina, sal
sódica



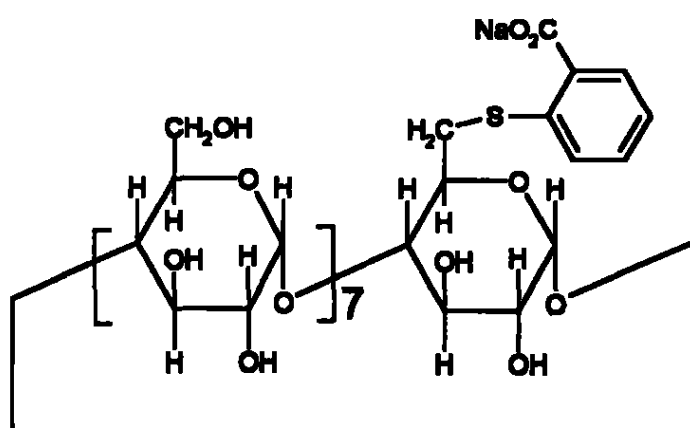
A un matraz de fondo redondo que contenía piridina (120 ml), se agregó γ -ciclodextrina seca (2,0 g, 1,54 mmol) bajo nitrógeno a temperatura ambiente. Después de la disolución, se agregó 2-naftalenosulfonil cloruro (1,05 g, 4,64 mmoles) en piridina (20 ml), y la mezcla fue agitada por 24 horas, extinguida con agua (50 ml) y evaporada a sequedad para dejar 6-mono-O-(2'-naftalenosulfonil)- γ -ciclodextrina cruda.

Hidruro de sodio (0,38g, 15,83 mmoles) fue suspendido en dimetilformamida seca (20 ml). Enseguida se agregó ácido 4-mercaptobenzoico (0,7 g, 4,55 mmoles) a la suspensión y la mezcla resultante fue agitada por 20 minutos. Se agregó γ -ciclodextrina nosilato (3,2g, 2,12 mmoles) a la mezcla y la reacción fue calentada a 100°C por 90 minutos. Después de enfriar, se agregó acetona para precipitar un sólido, que fue reprecipitado en agua/acetona. Luego, esto fue disuelto en agua (20ml), el pH fue ajustado a 7,0 añadiendo ácido clorhídrico 2N, y enseguida se sometió a cromatografía en una columna Sephadex DEAE A-25. Las fracciones apropiadas fueron combinadas, dializadas y luego precipitadas dos veces en agua/acetona, para dar 400 mg del

compuesto del título. ^1H NMR en DMSO δ 7,4 a 7,8 (ArH), 5,0 a 5,2 (8 H), 4,13 (1 H), 3,7 a 4,0 (29 H), 3,7 a 3,4 (17 H), 3,25 (1 H) ppm. ^{13}C NMR en DMSO δ 129,9 y 127,5 (ArC), 103,3 y 102,9 (C1 y C1'), 85,0 (C 4'), 81,6 (C 4), 73,8 (C 3), 73,5 (C 2), 72,2 (C 5), 70,8 (C 5'), 60,6 (C 6), 34,3 (C 6') ppm. Electrorroció MS $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1.455,7$ y $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1.477,7$.

Ejemplo 2

6-Mono-deoxi-6-mono-(2-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica

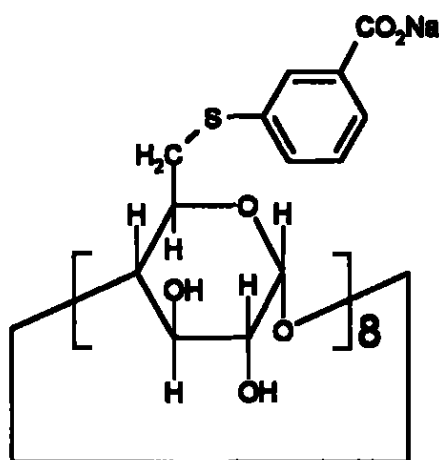


Hidruro de sodio (al 60% disperso en aceite, 0,18 g, 4,5 mmoles) fue agregado a ácido tiosalicílico (0,34 g, 2,2 mmoles) en DMF (25 ml) en una porción, y se agitó a temperatura ambiente por 30 minutos. Enseguida, a esto se agregó la solución cruda de 6-mono-O-(2'-naftalenosulfonil)- γ -ciclodextrina (2,5 g, 1,45 mmol) en DMF (15 ml) y se calentó a 70°C durante 24 horas. La mezcla fue enfriada y extinguida con agua (20 ml) antes de evaporar a sequedad. Luego se agregó agua al residuo, y la solución resultante fue vertida en acetona (250 ml) para efectuar la precipitación. El sólido

resultante fue recolectado por filtración y disuelto en agua (10 ml) antes de pasarlo a través de una columna Sephadex DEAE A-25, eluyendo con agua y luego con NaOH 0,2 N. Las fracciones que contenían el producto fueron combinadas y evaporadas hasta un pequeño volumen y dializadas (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona (100 ml). El sólido fue recolectado por filtración y secado al vacío a 70°C, para dejar el compuesto del título (235 mg) como un sólido blanco. ^1H NMR (D_2O) δ 7,50-7,10 (4 H, m, Ar-H), 5,14 (8 H, m, CyD 1-H), 4,16 (1 H, m, CyD 5-H), 3,98-3,85 (26 H, m, CyD 3,5,2,4-H), 3,70-3,61 (20 H, m, CyD 2,3,4,6-H), 3,15 (1 H, m, CyD 6-H) ppm; Electrorrocio MS m/z 1.477,6 para $[\text{M}+\text{Na}]^+$, calculado para $\text{C}_{55}\text{H}_{83}\text{NaO}_{41}\text{S}$ M 1.455,304.

Ejemplo 3

6-Per-deoxi-6-per-(3-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica



21
77

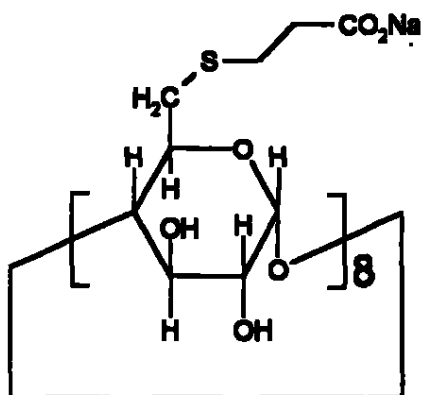
Trifenilfosfina (30,1 g, 15 eq) fue disuelta con agitación en DMF seca (160 ml). A esto se agregó yodo (30,5 g, 15,6 eq) en 10 minutos, con desprendimiento de calor. Enseguida se agregó γ -ciclodextrina seca (10 g, 7,7 mmoles) y la mezcla se calentó a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar, se le agregó metóxido de sodio (3,1 g de sodio en 50 ml de metanol) y la mezcla fue agitada por 30 minutos, antes de verterla en metanol (800 ml) y evaporar a sequedad. Al residuo se agregó agua (500 ml) y el sólido fue recolectado por filtración y lavado con agua (3x100 ml) y luego acetona (3x100 ml) y secado al vacío a 70°C, para dar 6-per-deoxi-6-per-yodo- γ -ciclodextrina como un sólido de color amarillo (16,2 g), que fue usado sin mayor purificación.

A una solución de ácido 3-mercaptopbenzoico (1,0 g, 10 eq) en DMF (30 ml), se agregó hidruro de sodio al 60% disperso en aceite (476 mg, 22 eq) en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue enfriada y se le agregó 6-per-deoxi-6-per-yodo- γ -ciclodextrina (1,4 g) en DMF (30 ml). Luego, la mezcla fue agitada a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida con la adición de agua (20 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. La solución fue vertida en acetona (500 ml) y el precipitado fue recolectado por filtración, disuelto en agua (20 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona (250 ml). El precipitado sólido fue recolectado por filtración y secado al vacío a 70°C para dar el compuesto del título (1,45 g) como un sólido blanco: ^1H NMR (D_2O) δ 7,77 (8 H, br s, Ar-H), 7,55 (8 H, d, J

= 6,0 Hz, Ar-H), 7,71 (16 H, m, Ar-H), 5,16 (8 H, s, CyD 1-H), 4,00-3,94 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3,58-3,53 (16 H, m, CyD 4,2-H), 3,43-3,40 (8 H, m, CyD 6-H), 3,24-3,20 (8 H, m, CyD 6-H); Electrorrocío m/z 1.190,6 para $[M-8Na+6H]^{2-}$, calculado para $C_{104}H_{104}Na_8O_{48}S_8$ M 2.562,39.

Ejemplo 4

6-Per-deoxi-6-per-(2-carboxietil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica



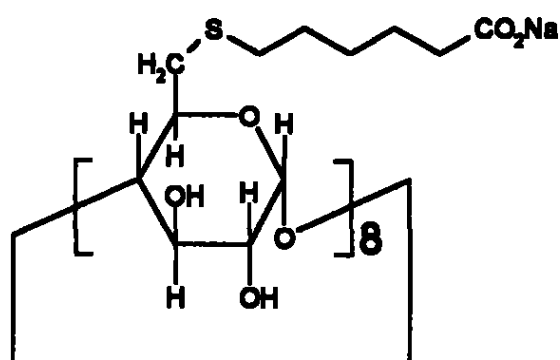
Acido 3-mercaptopropiónico (1,22 ml, 14,0 mmoles) fue disuelto en DMF seca (45 ml) bajo N_2 a temperatura ambiente. A esta solución se agregó, en tres porciones, hidruro de sodio (1,23 g, 30,8 mmoles, al 60%) y la mezcla fue agitada por 30 minutos más. A esta mezcla se agregó enseguida gota a gota una solución de 6-per-deoxi-6-per-yodo-γ-ciclodextrina (3,12 g, 1,40 mmol) en 45 ml de DMF seca. Después de la adición, la mezcla de reacción fue calentada a 70°C por 12 horas. Después de enfriar, se agregó agua (10 ml) a la mezcla, y el volumen fue reducido a 40 ml al vacío, a lo cual se agregó etanol (250 ml), causando la precipitación. El precipitado sólido fue recolectado por filtración y dializado

83
79

por 36 horas. Luego, el volumen fue reducido a 20 ml al vacío. A esto se agregó etanol, y el precipitado fue recolectado por filtración y secado para dar el compuesto del título como un sólido blanco (1,3 g, 43%). $^1\text{H-NMR}$ D_2O δ 2,47-2,51 (m, 16H); 2,84-2,88 (m, 16H); 3,00-3,02 (t, 8H); 3,11-3,14 (t, 8H); 3,62-3,68 (m, 16H); 3,92-3,97 (m, 8H); 4,04-4,06 (m, 8H); 5,19 (m, 8H) ppm. MS FIA +ion a 2.024,9 m/z.

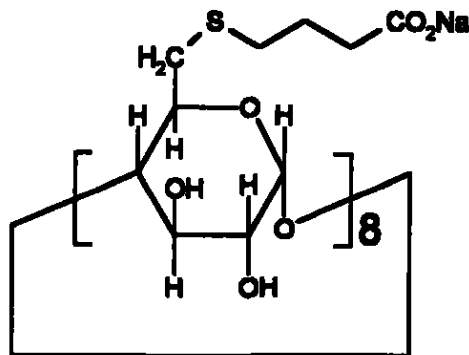
Ejemplo 5

6-Per-deoxi-6-per-(5-carboxipentil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica

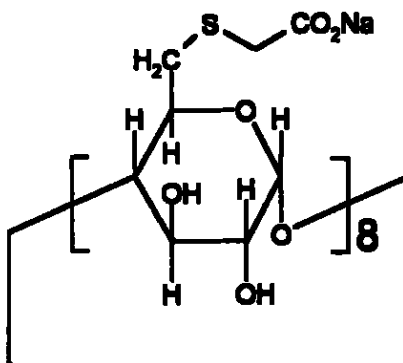


El compuesto del título se preparó de manera similar a la descrita en el Ejemplo 4, haciendo reaccionar ácido 6-mercaptohexanoico (1,34 g, 0,90 mmol) con 6-per-deoxi-6-per-yodo- γ -ciclodextrina. $^1\text{H-NMR}$ D_2O δ 1,40 (s, 16H); 1,57-1,64 (m, 32H); 2,17-2,21 (m, 16H); 2,67-3,00 (m, 16H); 2,85-2,90 (m, 8H); 3,15-3,20 (m, 8H); 3,52-3,59 (m, 8H); 3,60-3,63 (m, 8H); 3,87-3,93 (m, 16H); 5,16 (s, 8H) ppm. MS FIA +iones a 2.362,2, 2.213, 2.065 y 1.919 m/z.

813
8x
80

Ejemplo 66-Per-deoxi-6-per-(3-carboxipropil)tio-γ-ciclodextrina, sal sódica

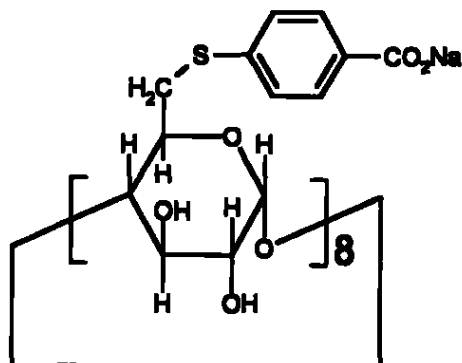
El compuesto del título se preparó de manera similar a la descrita en el Ejemplo 4, haciendo reaccionar ácido 4-mercaptobutírico (1,10 g, 0,009 mol) con 6-per-deoxi-6-per-yodo-γ-ciclodextrina. $^1\text{H-NMR}$ D_2O δ 1,87-1,88 (m, 16H); 2,27-2,30 (m, 16H); 2,67-2,71 (m, 16H); 2,98-3,00 (m, 8H); 3,13-3,16 (m, 8H); 3,61-3,63 (m, 16H); 3,94-4,03 (m, 16H); 5,21 (s, 8H) ppm. MS FIA +ion a 2.138,8 m/z.

Ejemplo 76-Per-deoxi-6-per-carboximetiltio-γ-ciclodextrina, sal sódica

85
31

Hidruro de sodio (dispersión al 60%, 0,34g, 8,60 mmoles) fue agregado a una solución agitada de 2-mercaptoacetato de etilo (0,92ml, 8,40 mmoles) en DMF (20 ml), bajo nitrógeno a temperatura ambiente. Una vez que cesó la efervescencia (15 minutos), se agregó al sistema per-6-deoxi-per-6-yodo- γ -ciclodextrina (2,17g, 1,00 mmol). Después de 5 minutos más, la temperatura fue elevada a 70°C y la reacción se dejó con agitación por 17 horas. Después de enfriar, la DMF fue removida al vacío. Se agregó metanol (50 ml) y un sólido blanco cremoso cristalizó lentamente de la solución. Este fue filtrado bajo succión, lavado con metanol y secado, para dar 6-per-deoxi-6-per-carbetoximetiltio- γ -ciclodextrina como un sólido (1,74 g, 82%). δ_H (d6-DMSO) 4,95-4,85 (8H, m, 8 x $\underline{CH}$ anomérico), 4,05 (16H, q, 8 x $\underline{CH_2CH_3}$), 3,85-3,75 (8H, m), 3,60-3,50 (8H, m), 3,40-3,20 (32H, bs, 8 x $\underline{CH_2SCH_2}$), 3,20-3,10 (8H, m), 2,95-2,85 (8H, m), 1,20 (24H, t, 8 x $\underline{CH_2CH_3}$).

A una solución 1M de hidróxido de sodio (7 ml), se agregó 6-per-deoxi-6-per-carbetoximetiltio- γ -ciclodextrina (1,00 g, 0,47 mmol), y la reacción se dejó agitando a temperatura ambiente. Después de 18 horas, la solución clara fue dializada por 8 horas, reemplazándose el agua (2 L) cada 2 horas. Después de este tiempo, el contenido de la tubería de diálisis fue vaciado en un matraz, y el agua fue evaporada al vacío dando el compuesto del título como un sólido blanco (0,62 g, 64%). δ_H (D₂O) 5,21 (8H, d, 8 x $\underline{CH}$ anomérico), 4,18-4,05 (8H, m), 4,00 (8H, dd), 3,78 (8H, dd), 3,70 (8H, dd), 3,40 (16H, dd), 3,20 (8H, d), 3,02 (8H, dd). δ_C (D₂O) 178,1, 101,6, 82,8, 73,0, 72,7, 71,8, 39,0, 34,1 LC/MS TOF 1.889 m/z.

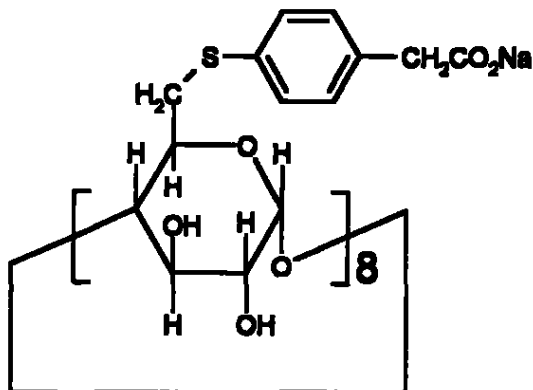
Ejemplo 8**6-Per-deoxi-6-per-(4-carboxifenil)tio-γ-ciclodextrina, sal
sódica**

A una solución de ácido 4-mercaptobenzoico (856 mg) en DMF (30 ml), se agregó hidruro de sodio al 60% disperso en aceite (372 mg), en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue enfriada y se le agregó per-6-bromo-γ-ciclodextrina (1,0 g) en una porción, y la mezcla fue agitada a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida con la adición de agua (20 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. La solución fue vertida en etanol (250 ml) y el precipitado fue recolectado por filtración, disuelto en agua (20 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona (250 ml). El precipitado sólido fue recolectado por filtración y secado al vacío a 70°C, para dar el compuesto del título (1,2 g) como un sólido blanco. ^1H NMR (D_2O , 343K) δ 7,70 (16 H, d, $J = 8,1$ Hz, Ar-H), 7,23 (16 H, d, $J = 7,3$ Hz, Ar-H), 5,15 (8 H, s, CyD 1-H), 4,00-3,96 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3,55-

3,53 (24 H, m, CyD 6',4,2-H), 3,15 (8 H, m, CyD 6-H); MALDI-TOF m/z 2.383,7 para $[M-Na+H_5]$, calculado para $C_{104}H_{104}Na_8O_{48}S_8$ M 2.562,39.

Ejemplo 9

6-Per-deoxi-6-per-(4-carboximetilfenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica



A una solución de ácido 4-mercaptofenilacético (10 eq) en DMF (50 ml), se agregó hidruro de sodio al 60% en aceite (22 eq), en porciones durante 30 minutos. La mezcla fue enfriada y se le agregó per-6-bromo- γ -ciclodextrina (1,0 g) en una porción, y la mezcla fue agitada a 70°C por 24 horas. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y fue extinguida con la adición de agua (20 ml), antes de evaporar hasta un pequeño volumen. Luego, la solución fue vertida en acetona (250 ml) y el precipitado fue recolectado por filtración, suspendido en agua (20 ml) y dializado (MWCO 1000), cambiando el agua externa cuatro veces. La solución interna fue evaporada hasta un pequeño volumen y vertida en acetona (250 ml). El precipitado sólido fue recolectado por

filtración y secado al vacío a 70°C, para dar el compuesto del título (1,44 g) como un sólido blanco. ^1H NMR (D_2O , 343K) δ 7,15 (16 H, d, $J = 8,0$ Hz, Ar-H), 6,99 (16 H, d, $J = 8,0$ Hz, Ar-H), 4,98 (8 H, s, CyD 1-H), 3,90-3,72 (16 H, m, CyD 3,5-H), 3,51-3,43 (16 H, m, CyD 4,2-H), 3,28 (24 H, m, $\text{CH}_2\text{-Ar}$, CyD 6'-H), 3,15-3,10 (1 H, m, CyD 6-H); MALDI-TOF m/z 2.495,8 para $[\text{M-Na}^+ + \text{H}_6]$, calculado para $\text{C}_{112}\text{H}_{120}\text{Na}_8\text{O}_4\text{S}_8$ M 2.674,6.

Ejemplo 10

Reversión del bloqueo neuromuscular en cobayos anestesiados *in vivo*.

Cobayos Dunkin-Hartley machos (peso corporal: 600-900 g) fueron anestesiados por administración i.p. de 10 mg/kg de pentobarbitona y 1.000 mg/kg de uretano. Después de la traqueotomía, los animales fueron ventilados artificialmente usando un ventilador para animales pequeños Harvard. Se colocó un catéter en la arteria carótida para el monitoreo continuo de la presión sanguínea arterial y la toma de muestras de sangre para el análisis de los gases sanguíneos. El pulso del corazón fue derivado de la señal de presión sanguínea. El nervio ciático fue estimulado (pulsaciones rectangulares de 0,5 ms de duración a intervalos de 10 s (0,1 Hz) a un voltaje supramáximo, usando un Estimulador Grass S88), y la fuerza de las contracciones de M. gastrocnemius se midió usando un transductor de fuerza-desplazamiento Grass FT03. Se registraron las contracciones, presión sanguínea y pulso en una grabadora multicanales Grass 7D. Se colocaron catéteres en ambas venas yugulares. Un catéter fue usado para la infusión continua de un agente bloqueador neuromuscular. La

velocidad de infusión del agente bloqueador neuromuscular fue aumentada hasta que se obtuvo un bloqueo de estado estable de 85-90%. El otro catéter fue usado para la administración de dosis crecientes del agente de reversión. Durante la infusión continua del agente bloqueador neuromuscular, se administraron dosis únicas de concentración creciente del agente de reversión. Al final del experimento, la fuerza medida de las contracciones musculares fue graficada contra la concentración del agente de reversión, y usando técnicas de análisis de regresión, se calculó la concentración para 50% de reversión.

Los resultados de la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por el relajante muscular bromuro de rocuronio (Roc), por los derivados de 6-mercapto-ciclodextrina de los Ejemplos 1-9, se presentan en la Tabla I. Para comparación, se incluyen también las actividades de reversión de los compuestos padres, β -ciclodextrina y γ -ciclodextrina.

20
26

TABLA I

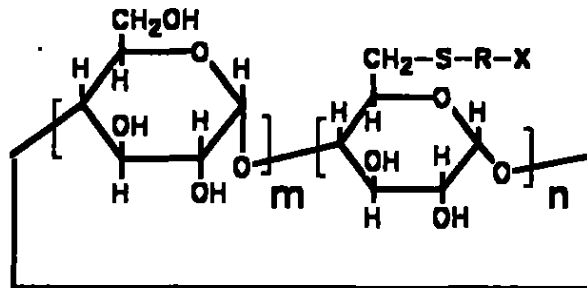
Dosis (ED_{50} , $\mu\text{mol.kg}^{-1}$) que produce el 50% de reversión del bloqueo neuromuscular de estado estable en cobayos anestesiados, y concentración a la reversión máxima.

Compuesto	ED_{50} $\mu\text{mol.kg}^{-1}$	reversión máx a conc. ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$)
γ -ciclodextrina (γ -CD)	4	
β -ciclodextrina (β -CD)	20	
6-mono-deoxi-6-mono-(4-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 1)	0,94	102 (8,0)
6-mono-deoxi-6-mono-(2-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina (Ejemplo 2)	1,30	93 (11)
6-per-deoxi-6-per-(3-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina (Ejemplo 3)	0,28	102 (1,28)
6-per-deoxi-6-per-(2-carboxietil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 4)	0,09	97 (0,53)
6-per-deoxi-6-per-(5-carboxipentil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 5)	0,74	78 (2,5)
6-per-deoxi-6-per-(3-carboxipropil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 6)	0,09	108 (0,48)
6-per-deoxi-6-per-carboximetil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 7)	0,21	88 (1,92)
6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 8)	0,10	95 (0,48)
6-per-deoxi-6-per-(4-carboxifenilmetil)tio- γ -ciclodextrina, sal sódica (Ejemplo 9)	0,13	100 (0,50)

21
87

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina que tiene la fórmula general I:



Fórmula I

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 ;

X es COOH u OH;

R es (C_{1-6}) alquileno ó $(CH_2)_o$ -fenileno- $(CH_2)_p$;

o, p son independientemente 0-4;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

con la exclusión de

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)- β -ciclodextrina;

6-mono-deoxi-6-mono-(2-hidroxietiltio)- β -ciclodextrina;

6-per-deoxi-6-per-(2-hidroxietiltio)- γ -ciclodextrina;

6-per-deoxi-6-per-(carboximetiltio)- β -ciclodextrina;

6-mono-deoxi-6-mono-(carboximetiltio)- β -ciclodextrina;

6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis[(o-carboxifenil)tio]- β -ciclodextrina;

y 6A,6B-dideoxi-6A,6B-bis(carboximetiltiol)- β -ciclodextrina.

92
86

2. El derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1, donde X es COOH.

3. El derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1, donde X es COOH; m es 0; n es 8; R es (C₁₋₆)alquilenos.

4. El uso de un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

5. Un kit para proporcionar bloqueo neuromuscular y su reversión que comprende (a) un agente bloqueador neuromuscular, y (b) un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1.

6. El kit de acuerdo con la reivindicación 5, donde el agente bloqueador neuromuscular se selecciona del grupo consistente en rocuronio, vecuronio, pancuronio, rapacuronio, mivacurio, (cis)atracurio, tubocurarina y suxametonio.

7. El kit de acuerdo con la reivindicación 6, donde el agente bloqueador neuromuscular es rocuronio.

8. Un método para la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos en un paciente, que

1
3

28

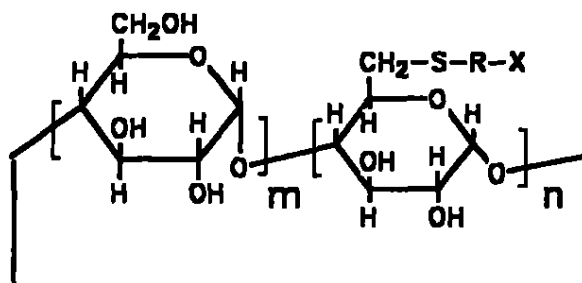
comprende administrar parenteralmente a dicho paciente una cantidad eficaz de un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina de acuerdo con la fórmula general I de la reivindicación 1.

24
90

802.341Pr

Resumen

Se describe un derivado de 6-mercapto-ciclodextrina que tiene la fórmula general I:



Fórmula I

donde m es 0-7, n es 1-8, $m+n = 7$ u 8 ;

X es COOH u OH;

R es (C_{1-6}) alquileo ó $(CH_2)_o$ -fenileno- $(CH_2)_p$;

o, p son independientemente 0-4;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

El derivado de 6-mercapto-ciclodextrina es muy adecuado para ser usado en la reversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

**F RMATO DE DIGITALIZACION
RELACION DE ANEXOS**



**Royal
Technologies S.A.**
Atención al Cliente: 0800 000 000

91

Expediente No		00090982	No de Follo
Item		No de unidades	
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA	1	
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS:		

Observaciones: *avc final*

96
92

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y CIENCIA
Radicacion : 6395982 6333333 Folios: 96
Fecha (AMD): 2000-11-28 16:58:04
Tramite : 632 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 69,137
FECHA : NOVIEMBRE 7 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	2825222	24,845,500.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
		TOTAL :	\$ 608,000.00

SOM: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



Colo 11214-001-014-5



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION [X]

MODELO DE UTILIDAD []

- | | | |
|---|----|-----|
| • Nombre e identificación del Solicitante | 1 | [X] |
| • Nombre e identificación del Inventor | 1 | [X] |
| • Título o nombre de la Invención | 1 | [X] |
| • Descripción | 3 | [X] |
| • Reivindicaciones | 40 | [X] |
| • Resumen | 44 | [X] |
| • Comprobante de Pago | 96 | [X] |
| • Poder, cuando proceda | | [] |
| • Copia de la primera solicitud de patente, si reivindica prioridad, señalándola expresamente | | [] |
| • Firma del solicitante o apoderado | | [] |

COMPLETA []

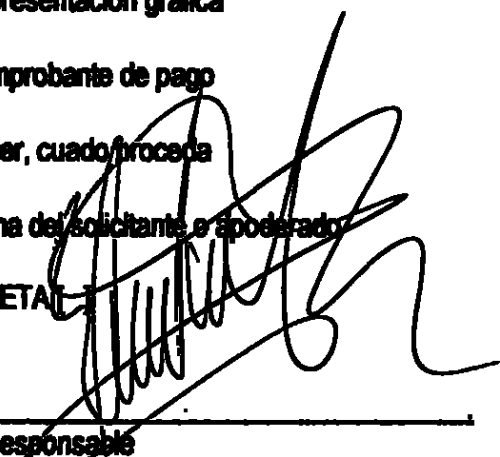
INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- | | |
|--|-----|
| • Nombre e identificación del peticionario | [] |
| • Nombre e identificación del inventor o diseñador | [] |
| • Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse | [] |
| • Representación gráfica | [] |
| • Comprobante de pago | [] |
| • Poder, cuando proceda | [] |
| • Firma del solicitante o apoderado | [] |

COMPLETA []

INCOMPLETA []


Firma Responsable

Fec
Radicación : 00309982 002200250 Folios: %
Fecha (ANO): 2009-11-28 16:58:04
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRAD/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia



94

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

98

2020
Bogotá, DC

Doctor
EMILIO FERRERO

REFERENCIA:	Radicación No.	00-90982
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	0628
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

- Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el inventor al solicitante o a su causante (art. 26-k, Dec 486/2000).

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la Resolución Reglamentaria No. 210 del 15 de enero del 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 15 MAR. 2001

202027/202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: info@slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia