

375 387



Memoria descriptiva

SECCION TECNICA	
CLASIFICACION	C
CLASE	C07 A61
SUBCLASE	C R

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de NEWPORT PHARMACEUTICALS, INC.

entidad / ~~de nacionalidad~~ norteamericana

con domicilio en 1590 Monrovia Boulevard, Newport Beach,
California, Estados Unidos de América.

por: "UN PROCEDIMIENTO DE PREPARAR UN COMPLEJO DE INOSINA
CON UN DIALCOHIL AMINOALCOHOL"

(Clase Internacional C07c)

22 EN 

El presente invento se refiere a nuevos derivados de inosina.

5 La inosina es un ribósido conocido por tener actividad fisiológica, por ejemplo, vease "Inosine" publicado por Morishita Pharmaceutical Co., Ltd. de Osaka, Japón, y también "Metabolic Activator Inosine Preparations", publicado por Morishita Pharmaceutical Co., Ltd.

10 Sin embargo, la inosina tiene menores propiedades de aumento del adiestramiento o aprendizaje en animales viejos, y en algunos casos en que el complejo del presente invento aumenta el aprendizaje, la inosina en realidad retarda el aprendizaje.

Es un objeto del presente invento desarrollar nuevos derivados de inosina.

15 Otro objeto es devolver la capacidad de aprendizaje deteriorada o estropeada.

Un objeto adicional es reducir la senilidad y reducir las características de envejecimiento.

20 Otro objeto más es combatir enfermedades de virus.

25 Todavía otros objetos y todo el alcance de aplicabilidad del presente invento resultarán evidentes a partir de la descripción detallada que se da a continuación; se ha de entender, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican realizaciones preferidas del invento, están dados sólo a título de ilustración, dado que diversos cambios y modificaciones dentro del espíritu y alcance del invento resultarán evidentes para los técnicos en la materia a partir de esta descripción detallada.

30

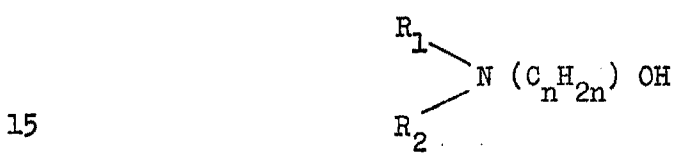
375387



Se ha encontrado ahora que estos objetos pueden lograrse produciendo complejos de inosina con dialcohol-aminoalcanoles. Los complejos pueden ser utilizados en la forma de la base libre o en la forma de sus sales con ácidos farmacológicamente aceptables.

Aunque las utilizaciones se encuentran primordialmente en el sector farmacológico, las sales son útiles como agentes de curado para resinas de melamina-formaldehido o de urea-formaldehido.

Los dialcoholaminóalcanoles tienen preferiblemente la fórmula



en que R_1 y R_2 son alcohol inferior, por ejemplo desde metilo a butilo, y n es un número entero de 2 a 4. Complejos de inosina típicos incluyen los complejos con dimetilaminoetanol, dimetilaminoisopropanol, dietilaminoetanol dietilaminoisopropanol, metiletilaminoetanol, dimetilaminopropanol, dimetilaminobutanol, dibutilaminoetanol, dipropilaminoetanol, diisopropilaminoetanol. El compuesto de aminoalcohol preferido es dimetilaminoisopropanol, ya que exhibe la más amplia variedad de propiedades.

En calidad de ácidos para formar las sales se puede utilizar cualquier ácido farmacológicamente aceptable tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acetilsalicílico, ácido d-tartárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido cítrico,



ácido trans-cinámico, ácido salicílico, ácido adípico, ácido metanosulfónico, ácido acético, ácido para-amino-benzoico, ácido propiónico, La mayor parte de las sales con las aminas son higroscópicas. Sin embargo, la sal de ácido para-acetamidobenzoico del complejo de inosina-dimetil-aminoisopropanol es sólida y es la sal actualmente preferida. Es preparada mezclando dimetilaminoisopropanol y ácido para-acetamidobenzoico en cantidades equimolares y después calentando ligeramente. La sal formada de esta manera es después mezclada en seco con inosina en una proporción molar de, por ejemplo, 1:1 ó 3:1 (sal a inosina). El complejo es formado entonces, por ejemplo, disolviendo en agua, y puede ser recuperado desde esta si se desea, por evaporación.

15 La proporción molar de aminoalcohol a inosina puede variar desde 1:1 hasta 10:1. La proporción preferida es de 3:1 (aminoalcohol a inosina).

De acuerdo con el presente invento, se han descubierto propiedades farmacológicas únicas en su género de derivados de N,N-dialcohol-alcanolamina que son adecuadas para superar defectos de aprendizaje, para reducir o eliminar la senilidad, para ayudar en el tratamiento de enfermedades neuroatróficas, por ejemplo, esclerosis lateral aminotrófica (ELA) y otros estados en que la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) de elevado peso molecular y de proteínas en el cerebro puede ser inadecuada.

Los compuestos, y particularmente el complejo con dimetilaminoisopropanol de inosina (proporción molar 1:1 a 10:1, preferiblemente 3:1), se ha encontrado (1) que devuelven el comportamiento deteriorado de aprendizaje

y de memoria de ratas viejas al estado normal joven para tareas tanto difíciles como fáciles en cualquier momento del día y de la noche y (2) que aumentan la capacidad de ratas jóvenes para aprender tareas muy difíciles. El efecto es único en su género dado que la inosina o los aminoalcoholes solos no producen jamás los efectos en cuestión tan intensamente como la combinación y, en efecto, para animales jóvenes en ciertos momentos del día, producen en realidad un perjuicio del aprendizaje mientras que, en contraste, la combinación del presente invento produce un aumento del aprendizaje.

Los compuestos del presente invento, cuando la proporción molar de aminoalcohol a inosina es desde 1:1 hasta 3:1, tienen un DL_{50} por encima de 4.000 mg/kg en ratas o ratones cuando son administrados intraperitonealmente u oralmente. Por encima de una proporción de aminoalcohol a inosina de 10:1 hay un aumento significativo de toxicidad.

Resulta que la utilización de los aminoalcoholes con inosina para formar los complejos del presente invento modifica el metabolismo de inosina en el cerebro. Así, cuando uno de los complejos a base de dimetilaminoisopropanol e inosina radiactiva) fué inyectado en el cerebro de una rata, el metabolismo de la inosina radioactiva fué alterado radicalmente (la inosina radioactiva fué utilizada como trazador).

Mientras que la inosina tenía algún efecto de aumento de la memoria y del aprendizaje de animales viejos por ejemplo ratas y ratones, los complejos de inosina-aminoalcohol del presente invento (particularmente el comple-

375387

22 ENE 

jo con dimetilaminoisopropanol, por ejemplo, con una proporción molar 1:1) tienen un mayor efecto.

5 En animales (ratas) de edad media o jóvenes en que la inosina inhibía el aprendizaje, el complejo del presente invento, por el contrario, aumentaba la capacidad de aprendizaje. La diferencia de efectos dependía del momento del día. Por la tarde o primeras horas de la noche, tanto la inosina como el complejo [complejo de dime-
10 tilamino isopropanol (proporción molar 1:1)] aumentaba la capacidad de aprendizaje. En momentos más tempranos del día, por ejemplo la mañana o primeras horas de la tarde, solo el complejo aumentaba la capacidad de aprendizaje.

15 Los efectos de aumento de capacidad de aprendizaje se observan mejor cuando la tarea utilizada pone de manifiesto las características deterioradas existentes en animales viejos. En tareas fáciles, que los animales viejos pueden realizar igual de bien que los jóvenes, la inosina o el complejo de inosina-aminoalcohol aumentan la capacidad de aprendizaje solo por la tarde. Con tareas más
20 difíciles, el complejo (1:1 molar) aumenta la capacidad de aprendizaje de día, mientras que la inosina propiamente dicha inhibe la capacidad de aprendizaje.

25 Por la noche, cuando los animales (ratas) están activos, el complejo (1:1 molar) es significativamente mejor que la inosina para comunicar aumento de capacidad de aprendizaje tanto en el caso de tareas muy difíciles como tareas de dificultad media. Por la mañana, con tareas difíciles, el complejo aumenta la capacidad de aprendizaje mientras que la inosina inhibe la capacidad de aprendiza-
30 je.

375387



Con otras drogas, se ha establecido por parte de los técnicos en la materia que existe una correlación entre el aumento de capacidad de aprendizaje en otros mamíferos, por ejemplo ratas, y en seres humanos.

5 El complejo con dimetilaminoisopropanol (1:1 molar) hace indistinguible la capacidad de aprendizaje y la memoria de ratas jóvenes y de ratas viejas en las que el aprendizaje y la memoria eran defectuosos en la ausencia de tratamiento. Los resultados son mucho más dramáticos
10 o llamativos que los que se han encontrado con difenilhidantoina.

Se ha observado también que el complejo de inosina del invento [por ejemplo 1:1 molar ó 1:3 molar (inosina a aminoalcohol)] modifica los poli-ribosomas, haciéndolos mas combinados internamente con hidrógeno. El complejo efectua esto en un mayor grado que la inosina, y la inosina lo efectúa en un mayor grado que lo efectúan testigos de comparación. Además, en ensayos con ratas, se ha
15 encontrado que el espectro de los tipos de ribosomas en el cerebro cambia únicamente en la presencia del complejo (por ejemplo, el complejo con dimetilaminoisopropanol 1:1 molar) pero no en la presencia de inosina sola. Aparece una nueva banda ligera que tiene las características de los informosomas.
20

25 Los complejos del presente invento y particularmente el complejo de inosina y dimetilaminoisopropanolamina han mostrado también potentes características antiviruses. Así, en sistemas de virus de influenza y de herpes en animales en que la inosina es casi completamente eficaz, el
30 complejo ha protegido 60 a 80% de los animales (ratas)

375387

22 ENE



5 mientras que todos los animales testigos murieron. Se ha encontrado también que el complejo (1:1 ó 3:1 molar de aminoalcohol a inosina) puede ser administrado hasta 12 horas después de la inoculación con el virus, mientras que en 15 minutos se iniciará la infección.

10 Cuando la inosina y el dimetilaminoisopropanol fueron puestos en solución acuosa y evaporados hasta sequedad, se obtuvo en primer lugar un precipitado de inosina pura y después el complejo en forma de un residuo que tenía un espectro de IR diferente. La proporción molar de aminoalcohol a inosina era de 3:1.

15 La inosina y el clorhidrato de dimetilamino isopropanol en exceso fueron mezclados y fundidos. Se efectuó un intento de sublimar la amina en exceso. No se pudo recuperar por sublimación la totalidad de la amina. El residuo tenía 3 amino por grupo de inosina.

20 Cuando la inosina y el dimetilaminoisopropanol fueron disueltos en agua en la proporción molar de 1:10 (inosina a aminoalcohol) la espectroscopia de ultravioletas mostró un espectro único en su genero, no simplemente un efecto aditivo. Así a 285 milimicras había un único pico de UV y un pico negativo a 200 milimicras.

25 La evidencia de la novedad del complejo está mostrada en los dibujos que son las curvas de IR (infrarrojos) para tres compuestos dentro del margen de 6 a 13 micras.

30 La figura 1 es el espectro de IR para el complejo de 1 mol de inosina con 4 moles de clorhidrato de dimetilaminoisopropanol disueltos en agua seguido por secado;

La figura 2 es el espectro de IR para inosina; y

375387



La figura 3 es la curva de IR para una mezcla física seca de inosina y clorhidrato de dimetilaminoisopropanol (1:1 molar).

5 Una comparación de las curvas hace evidente que el complejo (figura 1) tiene un espectro o curva de IR diferente que lo que se esperaría de sus componentes. Así, los picos esperados por encima de 11,45 micras, a 8 micras a 8,1 micras y a 8,55 micras faltan en la figura 1 pero están presentes en las figuras 2 y 3.

10 Con proporciones molares de inosina a aminoalcohol, por ejemplo, dimetilaminoisopropanol, tan pequeñas como 1:10 se observó una diferencia en la espectroscopia de ultravioleta (UV) con relación a la que se podía esperar de los constituyentes.

15 Cuando la inosina y el dimetilaminoisopropanol fueron mezclados en agua destilada se observaron espectros de UV que revelaron la existencia de estados electrónicos únicos en su género que proporcionaron evidencia de formación de complejo. Así, se estudió el espectro de una solución acuosa 0,5 molar en dimetilaminoisopropanol y 0,022
20 molar en inosina con un pH de 10,0 (utilizando una solución tampon Na_2HPO_4 -KOH 0,5 molar), y fué comparado éste con el espectro en ausencia de inosina. Se encontró que la energía de longitud de onda corta desaparecía y la energía de longitud de onda larga aparecía en la presencia de la inosina.
25 Este desplazamiento hacia la observación de mayores longitudes de onda estaba asociado con la aparición de un nuevo pico a aproximadamente 270 milimicras.

30 Con un pH de 7,2, una solución acuosa 0,5 molar en dimetilaminoisopropanol y 0,037 molar en inosina mostró

375387



una reacción similar pero más débil. Se efectuaron pequeños ajustes de pH para la solución de inosina empleando cantidades muy pequeñas de NaOH; el dimetilaminoisopropanol fué ajustado o valorado con HCl al valor de pH de 7,2 y por lo tanto estaba en la forma de la sal de clorhidrato. El nuevo pico aparecía aproximadamente a 285 milimicras (en lugar de a 270 milimicras).

Se estudiaron una variedad de proporciones de inosina a dimetilaminoisopropanol tanto a un pH de 10,0 como de 7,2, con resultados cualitativamente similares. El sistema fué estudiado también en la presencia y en la ausencia de HCl 0,5 molar, añadido a la solución de inosina sin dimetilaminoisopropanol, sin cambio significativo de resultados, indicando que las diferencias de espectro observadas no eran una función de la presencia de cloruros o cationes no específicos. Se ha observado que el dimetilaminoisopropanol y la inosina conjuntamente en un medio acuoso generan espectros de absorción de UV en los márgenes de pH alcalinos, neutros y ácidos, que se diferencian de la suma de los espectros de los solutos tomados separadamente, de manera tal que revelan la formación de complejo.

Por otra parte, se ha observado también que hay una desaparición de un pico a aproximadamente 200 milimicras a un pH de 7 cuando se utiliza una solución acuosa de inosina y de dimetilaminoisopropanol en la proporción molar de 1:10.

Se observó también el coeficiente de difusión de inosina en agua. A un pH de 10,4, la difusión de inosina en agua es aproximadamente 80% mayor que la de una mezcla

22



5 de inosina-dimetilamino-isopropanol. Además, la inosina se difunde con más rapidez en una solución acuosa de dimetilaminoisopropanol que en agua sola. Todas las propiedades de difusión y espectroscópicas antes citadas indican que hay una unión de los dos componentes, es decir inosina y los aminoalcoholes.

10 La combinación de inosina y aminoalcohol, por ejemplo dimetilaminoisopropanol o dimetilaminoetanol, inhibe la ribonucleasa, lo cual no puede hacerlo ninguno de los dos componentes solo.

15 Se ha observado también que la administración de una mezcla en forma de polvos sólidos de inosina y del clorhidrato de aminoalcohol, por ejemplo clorhidrato de dimetilaminoisopropanol, cuando fué puesta en solución en el momento de administración, tenía el mismo efecto que la solución acuosa previamente formada. Los dos componentes del complejo pueden ser administrados en forma de complejo previamente formado, conjuntamente o incluso separadamente, con la condición de que haya una oportunidad para que los dos componentes se reunan en el cuerpo del animal.

25 A un paciente que tenía esclerosis lateral amiotrófica se administró la inosina y bien dimetilaminoetanol bien dimetilaminoisopropanol. Los dos componentes del complejo fueron administrados separadamente, pero de modo sustancialmente simultáneo. En el curso del año, unas veces se utilizó el complejo de dimetilaminoetanol y otras veces el complejo de dimetilaminoisopropanol. El paciente fué tratado unas veces cada día y otras veces tres veces por semana. El paciente, que pesaba 59 kg, recibió diariamente



dosis del complejo que variaban desde 80 hasta 138 mg/kg, sin efecto tóxico, durante un período de varios meses. La inosina fué administrada oralmente en la leche y el aminoalcohol fué tomado en jugo de naranja.

5 El dimetilaminopropanol no tiene las propiedades químico-físicas deseadas casi en la misma extensión o grado que el dimetilaminoisopropanol.

10 Los compuestos o complejos del presente invento pueden reducir características de envejecimiento en mamíferos tales como ratas, ratones, cobayas, primates, perros, gatos, caballos, ganado vacuno, ovejas y cerdos. Los complejos, por ejemplo, el complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol, pueden ser utilizados para la crianza de animales ya que invierten el deterioro en el hígado y en el cerebro, y además aumentan la función del cerebro.

15 Se ha observado una acción antiviral definida contra virus de ARN (ácido ribonucleico) y ADN (ácido desoxi-ribonucleico) incluyendo influenza tipo A (tanto la cepa PR como la cepa Bethesda) en ratones así como el virus de herpes (Lu) en ratones. En estos ensayos, la inosina y el dimetilaminoisopropanol fueron mezclados en solución acuosa en proporciones molares que variaban desde 20 1:1 hasta 1:10 y fueron ajustados a pH 7,0 con HCl. Esta solución fué inyectada intraperitonealmente a ratones dos veces por día en un nivel de dosis de 138 mg/kg ó fué introducida en el suministro de agua de tal modo que cada animal consumía aproximadamente 275 mg/kg por día por vía de la toma de agua natural. La combinación de inosina y DMAIP (dimetilamino isopropanol) suprimió la morbilidad y 25 la muerte debidas a la inoculación de virus de influenza o 30

375387

22 EN



de herpes. La inosina sola era ineficaz contra los virus de herpes y tenía un pequeño efecto insignificante contra los virus de influenza.

Los resultados típicos fueron los siguientes:

5

Virus de influenza. En ratones a los que se administró virus de influenza (cepa de Bethesda A-2) por inoculación intranasal, comenzando el tratamiento 3 horas después de la inoculación, 0 de 59 animales a los que se administraron inyecciones intraperitoneales placebo (solución salina) sobrevivieron de modo permanente, mientras que 17 de 30 animales a los que se dió inosina y DMAIP (1:3 molar) sobrevivieron permanentemente.

10

15

Virus de herpes: Virus de herpes fueron administrados intravenosamente a ratones y el tratamiento comenzó después de 3 horas. Sobrevivieron 1 de 59 animales testigo, mientras que sobrevivieron 17 a 30 animales que habían sido tratados intraperitonealmente con inosina-DMAIP (1:3 molar).

20

Tal como se indicó anteriormente, la proporción de inosina a aminoalcohol es preferiblemente de 1:1 o mayor, más preferiblemente entre 1:3 y 1:4, para producir los complejos del invento. Si la proporción es reducida hasta por debajo de 1:1, por ejemplo a 1:0,5 entonces se reduce la solubilidad del complejo de agua.

25

Se cree que los complejos del presente invento actúan cambiando la estructura interna de polímeros biológicos y orgánulos ricos en polímero de tal modo que los hacen menos inclinados a genera entropía positiva o aleatoriedad.

30

Este cambio es importante en el envejecimiento, ya que se ha encontrado que los orgánulos ricos en polímero, en tejidos en envejecimiento tienden a generar una can-

20.1.1970

A.A.B.

375387



5 tidad anormal de entropía positiva, es decir, aleatorie-
dad. Los cambios producidos por los complejos del inven-
to hacen a los orgánulos ricos en polímeros más resisten-
tes a las influencias que inducen pérdida de enlaces de
hidrógeno internos y por lo tanto los hacen más resisten-
tes al ataque por enzimas destructoras.

10 La sal de para-acetamido benzoato del complejo
es preparada de manera simple mezclando el aminoalcohol,
por ejemplo dimetilaminoisopropanol, y ácido para-acetami-
dobenzoico en cantidades equimolares, y calentando ligera-
mente.

15 La sal así producida puede ser mezclada simple-
mente con inosina en una proporción molar de sal a inosina
de 1:1, 3:1, 4:1, etc., y el producto está dispuesto para
ser puesto en solución acuosa. A continuación, la solución
acuosa puede ser evaporada hasta sequedad para obtener el
complejo en forma sólida. Se ha observado con el para-a-
cetamidobenzoato de inosina-DMAIP que la solubilidad aumen-
ta según la proporción molar pasa desde 1:1 a 1:2 a 1:3 a
20 1:4, pero que con 1:5 no hay aumento de solubilidad. La
sal de para-acetamidobenzoato de inosina-DMAIP es neutra.

Para-acetamidobenzoato de dimetilamino-2-propanol.
25 44,75 g (0,25 moles) de ácido para-acetamidobenzoico fue-
ron suspendidos en 125 ml de metanol anhidro a la temperatura
ambiente, y se añadieron con agitación mecánica 36 ml (0,29
moles) de dimetilaminoisopropanol. La reacción era exotér-
mica. Después de disolución del ácido y de enfriamiento,
la solución fué filtrada con succión a través de papel y
fué vertida en 400 ml de éter etílico anhidro. La cristala-
30 lización fué inmediata. El material cristalino blanco fué



5 filtrado con succión, fué lavado tres veces con éter atílico anhidro adicional, fué secado a la temperatura ambiente y fué recirstalizado a partir de 100 ml de metanol absoluto-acetato de etilo 25:75 (en volumen). Este producto fué secado a 50°C bajo vacío. Rendimiento 56,5 g. (80%) p. de f. 147-148°C. Fórmula empírica $C_{14}H_{22}O_4N_2$, C 59,54% (teoría 59,50%), H 7,83% (teoría 7,80%) N 10,04% (teoría 9,92%).

10 La sal era fácilmente soluble en agua muy estable a lo largo de un amplio margen de condiciones atmosféricas. Se descomponía a alrededor de 25-30°C por encima de su punto de fusión rindiendo de modo cuantitativo el ácido libre. Calentando a 50°C a la presión normal el cambio de peso era:

15

66 horas	-0,22%
90 horas	-0,28%
172 horas	-0,44%

20 El efecto del dimetilamino-2-propanol (DMAIP) y del dimetilamino-2-propanol para-acetamidobenzoato (DMAIPA) sobre la solubilidad en agua de la inosina está indicado más abajo.

25 Se habrá hacer observar que 268 mg de inosina se disolverán en 159 g de DMAIP.

375387



TABLA A

	<u>Inosina</u>	<u>DMAIPA</u>	<u>Volumen de H₂O</u>
	<u>Moles mg</u>	<u>Moles mg</u>	<u>para disolución</u>
	1 268	0 0	16,75 ml.
5	1 268	1 103	1,10 ml.
	1 268	2 206	0,44 ml.
	1 268	3 309	0,40 ml.
	1 268	4 412	0,35 ml.
	1 268	5 515	0,40 ml.
10	1 268	6 615	0,47 ml.

TABLA B

	<u>Inosina</u>	<u>DMAIPA</u>	<u>Volumen de H₂O</u>
	<u>Moles mg</u>	<u>Moles mg</u>	<u>para disolución</u>
15	1 0	1 282	0,14 ml.
	1 268	1 282	6,8 ml.
	1 268	2 564	3,5 ml.
	1 268	3 846	2,8 ml.
	1 268	4 1128	2,2 ml.
20	1 268	5 1410	2,2 ml.
	1 268	6 1692	2,2 ml.

Todas las soluciones indicadas en las Tablas A y B fueron preparadas a 23°C. En lo que respecta a la Tabla B, se deberá hacer observar que precipitó una pequeña cantidad de ácido para-acetamidobenzoico cuando se añadió el agua.

Se han identificado propiedades farmacológicas únicas en su genero en derivados de N,N-dialcohol alcanolamina, de utilización para corregir defectos de aprendizaje, suprimir infecciones de virus, superar la senilidad, enfer-

22 EN



medades neurotróficas y otros estados en que la síntesis de ARN de elevado peso molecular y de proteínas en el cerebro puede ser inadecuada o alterada.

5 Principalmente, se ha encontrado que el complejo de inosina-aminoalcohol restaura el comportamiento de aprendizaje y de memoria deteriorado de ratas viejas al estado normal joven para tareas tanto difíciles como tareas fáciles en cualquier momento del día y de la noche, y que el complejo aumenta la capacidad de ratas jóvenes para aprender tareas muy difíciles. El efecto es único en su género, dado que la inosina o los aminoalcoholes solos no producen jamás los efectos en cuestión de modo tan intenso como la combinación y, en efecto, para animales jóvenes, en ciertos momentos del día, la inosina o los aminoalcoholes producen en realidad un perjuicio para el aprendizaje, mientras que la combinación producía un aumento. Se encontraron cambios drámaticos o llamativos en el comportamiento de aprendizaje de ratas jóvenes y viejas por aplicación de tareas de aprendizaje de evitación de dificultad graduada, tal como se escribe por Doty [*Journal of Gerontology* volumen 21, páginas 287-290 (1966)]7.

10

15

20

Los datos dados a continuación en la Tabla 1 ilustran efectos del complejo de N,N-dimetilaminoetanol e inosina. Estos datos fueron obtenidos entre las 7 y las 9 de la tarde, que es el comienzo del "día" de las ratas, ya que estas son animales nocturnos, y representa el número de evitación satisfactoria (o resoluciones de tareas) en 90 intentos efectuados por ratas de diferentes edades cuando fueron expuestas a un régimen de aprendizaje de uno de dos niveles diferentes de dificultad de tarea. Se

25

30



dieron 30 intentos por día, 2 horas después de cada inyección placebo de 100 mg/kg de complejo de inosina-dimetil-aminoetanol. Esta dosificación fué utilizada en todos los estudios de comportamiento. Estos datos muestran que el complejo aumenta la capacidad para aprender de animales tanto jóvenes como viejos; y que lleva el rendimiento de aprendizaje deteriorado de animales viejos, especialmente evidente para las tareas difíciles, a niveles de testigos normales jóvenes. Sometiendo estos datos a un análisis de variancia en calculadora, el orden o grado de tratamiento con respecto a su capacidad para producir efectos de aumento del aprendizaje era complejo inosina-aminoalcohol > inosina > placebo ($p < 0,001$).

La Tabla 2 explora los efectos de inosina y de complejo de inosina-N,N-dimetilaminoisopropanol sobre la capacidad de aprendizaje de ratas de edad media (13 meses) para tareas difíciles, examinados a las 9 de la mañana de acuerdo con el protocolo antes descrito. El complejo produjo un grado significativamente mayor de aprendizaje de tarea que la inosina, y en realidad la inosina perjudicaba la capacidad de aprendizaje con relación a testigos tratados con placebo, en este momento del día. Es pertinente a esta diferencia en el signo real de efecto entre la inosina y el complejo sobre los anteriores animales, examinados a las 9 de la mañana, que los cerebros de animales tratados con estas drogas también manifiestan probablemente efectos bioquímicos significativos que son de signo opuesto; es decir, en la presencia de poli-ribosomas mas fracciones de savia de células de cerebros tratados con inosina, el ARN fué destruído con más rapidez que en el sistema

375387



testigo, mientras que en la presencia de dichas fracciones procedentes de los cerebros tratados con complejo, el ARN fué destruído con más lentitud que en el sistema testigo.

5 En otro experimento, se exploraron efectos de inosina y del complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol sobre el aprendizaje y recordamiento de una tarea muy fácil examinados a las 9 de la mañana o a las 9 de la tarde. En este caso, el recordamiento se llevó a cabo 10 días

10 después del aprendizaje o adquisición sin tratamiento adicional con droga. El criterio representa en este caso el logro de 7 evitaciones satisfactorias entre 10 intentos; Así, cuanto menor es el número de intentos requeridos para lograr este nivel de rendimiento, mayor es la inteligencia del animal. Además del efecto sobre el aprendizaje,

15 se llevó a cabo un estudio de actividad motora espontánea en animales similares, a los que se sometió a los tratamientos estudiados. Los resultados están indicados en la Tabla 3. Se observa que por la mañana, cuando se administra en un momento de elevada actividad espontánea para dormir a ratas, el complejo en realidad perjudica el aprendizaje y recordamiento en los animales jóvenes, mientras que al mismo tiempo reduce significativamente la actividad motora espontánea. Dicho perjuicio, en este caso, puede ser

20 puesto en relación con una tendencia a la droga a reducir la actividad espontánea o a aumentar la tendencia a dormirse dado que el aprendizaje de tareas simples en roedores es interferido con facilidad por efectos que disminuyen la vigilancia. En los animales muy viejos, la actividad espontánea durante los momentos tanto de 9 de la mañana como

30



de 9 de la tarde es reducida en los grupos testigo y en los grupos en tratamiento y no es reducida adicionalmente por la droga. En este grupo de edades de animales (la población objetivo) el complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol produce un acrecentamiento significativo tanto del aprendizaje como del recordamiento.

El funcionamiento óptimo del cerebro o de otras zonas del tejido nervioso, especialmente en situaciones de aprendizaje, de adaptación o de otros tipos de alta actividad, se considera generalmente que requiere la síntesis de ARN y proteínas nuevas. El cerebro viejo sintetiza menos ARN y proteínas del más elevado peso molecular; por lo tanto, pueden existir estados de déficit de comportamiento y de funcionamiento de sistema nervioso en los que una droga capaz de aumentar la síntesis de ARN de elevado peso molecular y de proteínas sería específicamente beneficiosa. En estudios de poliribosomas de gradiente de densidad de sacarosa, el complejo de inosina-aminoalcohol del invento aumenta la velocidad de síntesis de ARN en mayor grado de la inosina. El complejo de inosina-aminoalcohol era un inhibidor de la enzima, ribonucleasa, que destruye el ARN. Mientras que la inosina estimulaba esta enzima, la inosina aumenta la velocidad de síntesis de ARN con relación a testigos en un grupo significativamente menor que el complejo del invento. Además, el complejo, y no la inosina, provoca la aparición aumentada de un cuerpo en forma de partículas importante recientemente descubierto en el cerebro, denominado el informosoma. Este es un cuerpo identificado por sus características de centrifugación que caen entre 20 y 60 S, unidades Svedberg, signifi



cativamente más ligero que los monómeros de ribosomas. Se ha encontrado que este cuerpo participa en el transporte de ARN portador de información desde el núcleo al citoplasma en que tiene lugar la unión del ARN mensajero con ribosomas. La acción ha sido propuesta como un medio de proteger al ARN mensajero de una destrucción prematura por la ribonucleasa. Se ha encontrado que el complejo del invento identificado aumenta el contenido de informosomas específicamente en cerebros viejos.

10

TABLA 1

EFFECTO DE INOSINA Y DE INOSINA-DIMETILAMINO ETANOL
SOBRE LA ADQUISICION O APRENDIZAJE DE TAREA

15 Exitos medios en 90 intentos por todos los individuos de ensayo entre las 7 y 9 de la tarde.

Edad	Tratamiento	Tarea	
		Evitación Dis- criminada (di- ficultad inter- media)	Evitación retardada (muy difí- cil)
20	90 días Inosina	72,8	34,2
	Inosina-DMAE	72,8	40,6
	Solución salina	68,2	31,6
25	700 días Inosina	72,1 *	32,9*
	Inosina-DMAE	74,3 *	34,6*
	Solución salina	61,6	18,9

30 N = 8 para todos los grupos (N es el número de animales)
* Significativamente mayor que el promedio para ratas tes-
tigo de la misma edad (P < 0,01).

375387



Los análisis de variancia establecen que el orden de inosina-DMAE > inosina > solución salina para evitaciones efectuadas en 90 intentos es importante con $P < 0,01$. P es el valor de probabilidad dependiendo solo de la suerte.

5

TABLA 2

EFFECTO DE INOSINA Y DE INOSINA-DIMETILAMINO ISOPROPANOL SOBRE EL APRENDIZAJE DE TAREA

Estos medios en 90 intentos por todos los individuos de ensayo a las 9 de la mañana.

10

<u>Edad</u>	<u>Tratamiento</u>	<u>Evitación de tarea retardada (muy difícil)</u>
380 días	Solución salina	22
	Inosina	6
	Inosina-DIP	28 [‡]

15

N = 6 para todos los grupos

‡ Significativamente mayor que el promedio para ratas tratadas con inosina ($P < 0,01$).

20

375387

22 ENL 

TABLA 3
 EFECTOS DE INOSINA-DIMETILAMINO ISOPROPANOL EN EL
APREDIZAJE DE TAREA

Intentos realizados para lograr del criterio y la actividad de campo abierto.

Edad	Tratamiento	Tiempo	Tarea		
			Evitación simple (fácil)	Apren- zaje	Recor- damiento
5					
10	60 días Solución salina	9 mañana	14	9	73,4
		9 tarde	13	6	75,6
	Inosina-DIP	9 mañana	21 ^a	14	63,4 ^a
		9 tarde	13	8	70,5
15	180 días Solución salina	9 mañana	16	11	114,5
		9 tarde	15	8	122,8
	Inosina-DIP	9 mañana	22 ^a	11	101,7 ^a
		9 tarde	15	15	119,6
20	730 días Solución salina	9 mañana	22 ^b	17	41,2
		9 tarde	20	13	39,6
	Inosina-DIP	9 mañana	15 ^a	10	35,4 ^c
		9 tarde	14 ^a	7 ^a	37,2

25 N = 8 para todos los grupos

a Significativamente mayor que el promedio de testigos tratados con solución salina con la misma edad y con el mismo tiempo de ensayo ($P < 0,01$).

b Significativamente mayor que el promedio de testigos tratados con solución salina en otros grupos de edades ($P < 0,05$)

375387

22 ENE



c Significativamente diferente del promedio obtenido por grupos de tratamiento con solución salina de la misma edad y con el mismo tiempo de ensayo. ($P < 0,05$).

5 En la Tabla 1, el complejo de dimetilamino-etanol-inosina tenía una proporción molar de 1:1. La solución acuosa inyectada contenía 30 mg de complejo por 1,0 ml de agua.

10 En la Tabla 2, la inosina fué inyectada en una cantidad de 70 mg/kg de peso corporal. La solución acuosa inyectada contenía 20 mg de inosina por 1,0 ml de agua. El complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol tenía una proporción molar de 1:1 y fué inyectado en una cantidad de 100 mg/kg de peso corporal. La solución acuosa inyectada contenía 30 mg de complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol por 1,0 ml de agua.

15 En la Tabla 3, la solución salina fué inyectada en una cantidad de 8,7 mg de sal/kg de peso corporal, conteniendo la solución acuosa inyectada 8,7 mg de sal por 1,0 ml de agua. El complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol tenía una proporción molar de 1:1 y fué inyectado en una cantidad de 100 mg/kg de peso corporal. La solución acuosa inyectada contenía 30 mg de complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol por 1,0 ml de agua.

20 Los complejos del presente invento pueden ser administrados a un mamífero en una dosis de 1 a 1000 mg/kg de peso corporal.

25 La presente solicitud que corresponde a la presentada en Estados Unidos de América, con fecha 28 de Agosto de 1969, bajo el número 853.864, se acoge a los beneficios del Artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

375387

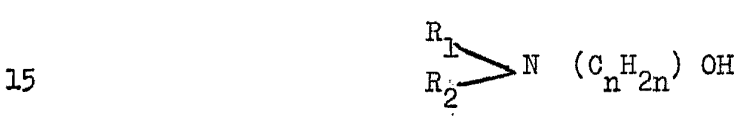
22 EN 1970

REIVINDICACIONES

5 Los puntos de invención, propia y nueva, que se
presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente
de Invención en España, por VEINTE años, son los si-
guientes:

10 1.- Un procedimiento de preparar un complejo de
inosina con un dialcohol aminoalcohol que comprende mezclar
inosina con un dialcoholamino alcohol.

2.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindi-
cación 1, en que el dialcoholaminoalcohol tiene la fórmu-
la



en que R_1 y R_2 son alcoholos inferior y n es un número en-
tero de 2 a 4.

20 3.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindi-
cación 2, en que el dialcoholaminoalcohol tiene una propor-
ción molar de inosina a aminoalcohol desde 1:1 a 1:10.

4.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindi-
cación 3, en que n es 2.

25 5.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindi-
cación 4, en que R_1 y R_2 son metilo.

6.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindi-
cación 5, en que el producto obtenido es un complejo de
inosina-dimetilaminoetanol.

30 7.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindi-
cación 6, en que la proporción de inosina a dimetilaminoetanol

375387



es desde 1:1 a 1:4.

8.- un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en que el producto es un complejo de inosina-dimetilaminoisopropanol.

5 9.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en que la proporción de inosina a dimetilaminoisopropanol es desde 1:1 a 1:4.

10 10.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en que la sal de clorhidrato del producto tiene el espectro de infrarrojos de la figura 1 de los dibujos.

11.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en que el complejo es transformado en una sal farmacológicamente activa, incluyendo en los reaccionantes un ácido farmacológicamente inocuo.

15 12.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en que el ácido es el ácido para-acetamidobenzoico.

20 13.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en que el dialcoholamino alcohol empleado es dimetilaminoetanol o dimetilaminoisopropanol.

14.- Un procedimiento de preparar un complejo de inosina con un dialcohol aminoalcohol.

25 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

375387

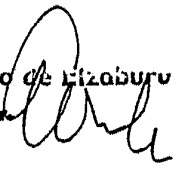
22



La presente Memoria consta de veintisiete hojas
escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, 22 ENE. 1970

P.A.

Alberto de Lizaburu
Por Poder 

375387

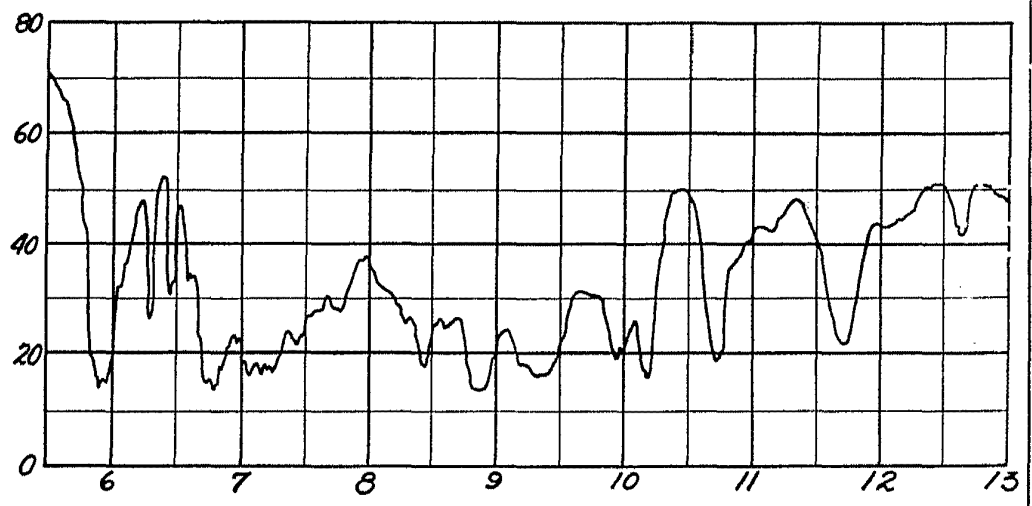
15.1.70

A.A.B.

375337 22 E



Fig. 1.

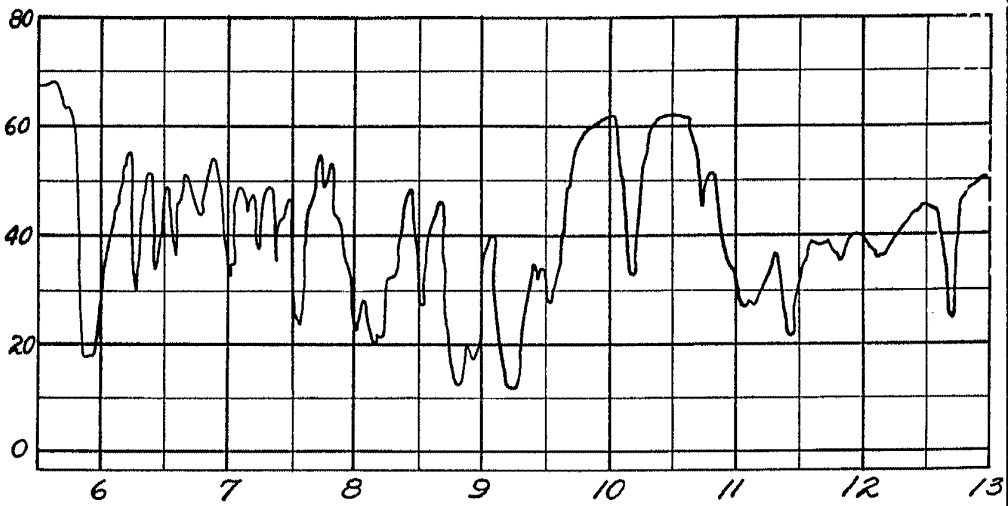


Per Page
Orli

370307



Fig. 2.



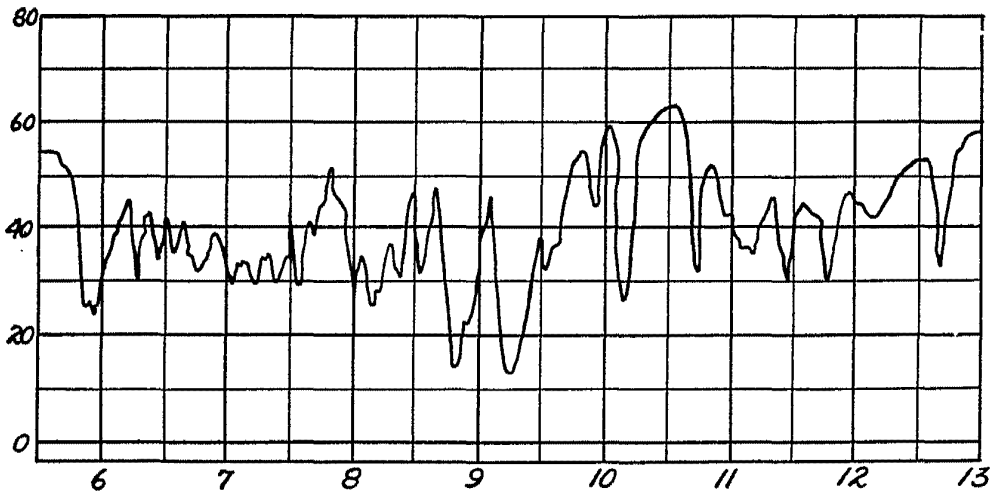
Albert de La...
For Peace

375337

20



Fig. 3.



Albert G. Laboratory
For Food