(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 235 158**

(51) Int. CI.:

C07C 405/00 (2006.01)
A61K 31/557 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA TRAS OPOSICIÓN T5

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.08.1994 E 94305752 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **30.09.2015 EP 0639563**

(54) Título: **Utilización de fluprostenol isopropil éster para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular**

(30) Prioridad:

03.08.1993 US 101598

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:
25.05.2016

(73) Titular/es:

ALCON RESEARCH, LTD. (100.0%)
6201 South Freeway
Fort Worth, TX 76134-2099, US

(72) Inventor/es:

KLIMKO, PETER G.;
BISHOP, JOHN E;
DESANTIS JR., LOUIS;
SALLEE, VERNEY L. y
ZINKE, PAUL W.

(74) Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

Observaciones :

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

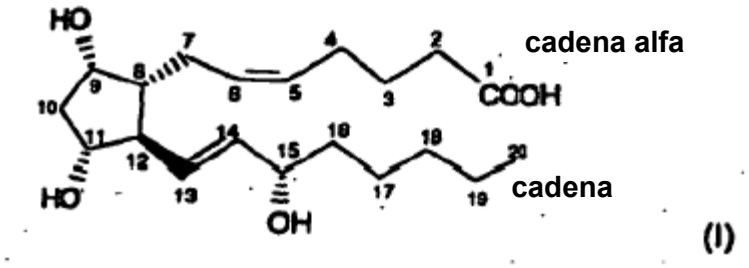
Descripción

Utilización de fluprostenol isopropil éster para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular

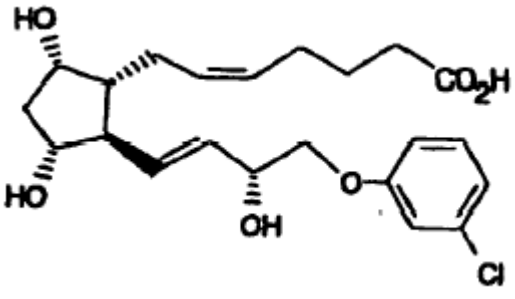
Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular. En particular, la presente invención se refiere a la utilización fluprostenol isopropil éster para tratar el glaucoma y la hipertensión ocular.

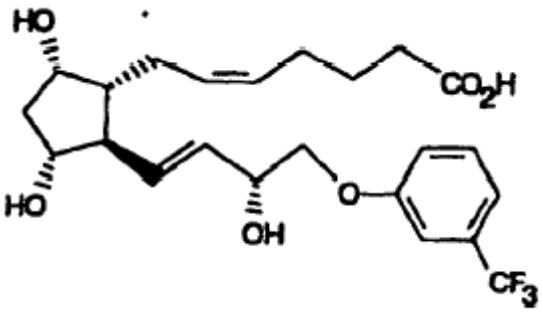
El cloprostenol y el fluprostenol, ambos compuestos conocidos, son unos análogos sintéticos de $PGF_{2\alpha}$, una prostaglandina (PG) de serie-F de origen natural. A continuación se muestran las estructuras de $PGF_{2\alpha}$ (I), cloprostenol (II), y fluprostenol (III):



(I)



(II)



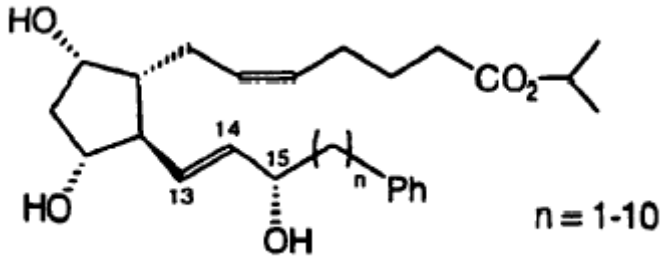
(III)

El nombre químico para el cloprostenol es 16-(3-clorofenoxi)-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$. El monográfico Nº 2397 (página 375) de The Merck Index, 11th Edition (1989) está incorporado aquí como referencia hasta el punto de que describe la preparación y los perfiles farmacológicos conocidos del cloprostenol. El nombre químico del fluprostenol es 16-(3-trifluorometilfenoxi)-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$. El monográfico Nº 4121 (páginas 656-657) de The Merck Index, 11th Edition (1989) está incorporado aquí como referencia hasta el punto de que describe la preparación y los perfiles farmacológicos conocidos del fluprostenol. El cloprostenol y el fluprostenol son 16-ariloxi PGs y, además del anillo aromático sustituido, difieren del producto natural $PGF_{2\alpha}$ en que se incluye un átomo de oxígeno en la cadena inferior (omega). Esta interrupción con oxígeno origina una funcionalidad éter.

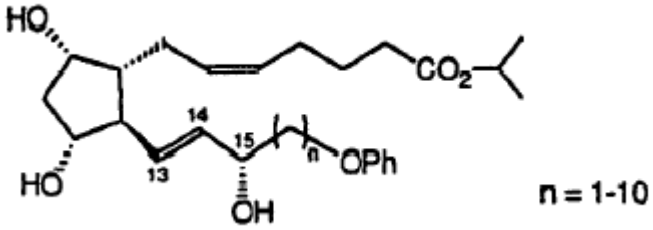
Las prostaglandinas de origen natural son conocidas por disminuir la presión intraocular (IOP) después de su instilación ocular tópica, pero generalmente provocan una inflamación, así como una irritación superficial caracterizada por hiperemia y edema conjuntival. Se ha observado que numerosas prostaglandinas sintéticas reducen la presión intraocular, pero estos compuestos producen también los efectos secundarios anteriormente mencionados. Se han utilizado varios métodos para intentar superar los efectos oculares secundarios asociados a las prostaglandinas. Stjernschantz y col. (EP 364 417 A1) han sintetizado derivados o análogos de las prostaglandinas de origen natural para eliminar selectivamente los efectos secundarios indeseados manteniendo el efecto de disminución de la IOP. Otros, incluidos Ueno y col. (EP 330 511 A2) y Wheeler (EP 435 682 A2) trataron de combinar las prostaglandinas con varias ciclodextrinas.

La publicación de Stjernschantz y col. Tiene un interés particular ya que demuestra que algunos análogos de $PGF_{2\alpha}$ modificados sintéticamente conservan el potente efecto de reducción de la IOP del compuesto original (isopropil éster de $PGF_{2\alpha}$) disminuyendo a la vez el grado de hiperemia conjuntival. En esta publicación, la única modificación de la estructura de la PG se produce en la cadena omega: la longitud de cadena es de 4-13 átomos de carbono “opcionalmente interrumpidos por, preferentemente, no más de dos heteroátomos (O, S, o N)” e incluye un anillo fenilo (sustituido o no sustituido) al final (ver página 3, línea 44 hasta página 4, línea 7). Stjernschantz y col. ejemplifican dos subclases dentro de esta definición:

(1) cadenas omega de carbono solamente, es decir,



(2) cadenas omega con interrupción de heteroátomos, es decir,

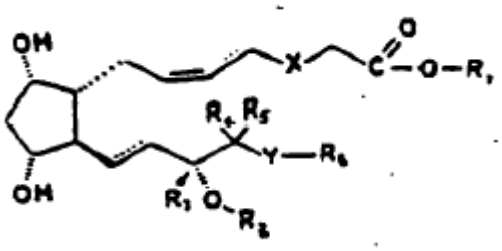


En particular, el análogo 17-fenil-18,19,20-trinor de $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster (Fórmula 1, n = 2) mostró una mayor separación de las actividades favorables y adversas. Además, el análogo 13,14-dihidro de 17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$isopropil éster mostró una separación aun más favorable de tales actividades. Tanto el 17-fenil $PGF_{2\alpha}$ como su congénere 13,14-dihidro entran en las subclases anteriores (Fórmula 1, cadenas omega con sólo carbono). En otros análogos sintéticos que emplean el sustituyente fenilo al final de la cadena omega se examinaron efectos de alargamiento de la cadena, contracción de la cadena y sustitución del anillo fenilo. Sin embargo, estos análogos no mostraron ninguna mejora terapéutica aparente con respecto a la formulación preferente, 13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster.

Debido a la presencia de una interrupción con el heteroátomo (O) en la cadena omega, tanto el cloprostenol como el fluprostenol están incluidos genéricamente en la subclase definida por Stjernschantz y col. en la Fórmula 2. Sin embargo, Stjernschantz y col. no mencionan específicamente ningún compuesto y el descubrimiento se refiere principalmente a cadenas omega de carbono solamente. El único ejemplo de cadena omega interrumpida por un heteroátomo, que se muestra en Stjernschantz y col. es 16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster (ver Fórmula 2, n = 1). Los datos de la IOP mostrados por Stjernschantz y col. para el 16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$isopropil éster (ver Stjernschantz y col., página 17, Tabla V) indican un incremento inicial de la IOP (1-2 horas después de la administración) seguido por una disminución. Además, este compuesto provoca una hiperemia inaceptable (ver Stjernschantz y col., Tabla IV, línea 40).

Resumiendo, los datos de Stjernschantz y col. indican que la clase subgenérica de cadena omega interrumpida con oxígeno (ver Fórmula 2) muestra un perfil terapeútico inaceptable.

La EP 0 603 800, que pertenece a la técnica anterior bajo el Artículo 54(3) EPC, presenta combinaciones de prostaglandinas de las clases F y E. La prostaglandina de clase F tiene la fórmula:



en la cual:

X e Y pueden ser iguales o diferentes, y son: CH_2 u O;

R_1 es hidrógeno, una parte sal catiónica, una parte amina farmacéuticamente aceptable o una parte éster farmacéuticamente aceptable derivada del alcohol correspondiente; y

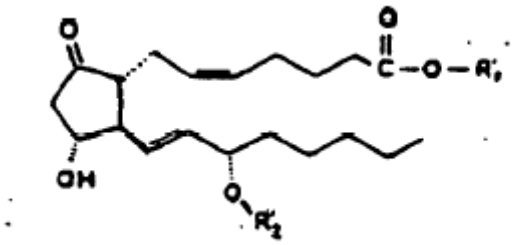
R_2 es hidrógeno o una parte éster farmacéuticamente aceptable derivada del ácido carboxílico correspondiente,

R_3, R_4 y R_5 pueden ser iguales o diferentes, y son: H o CH_3, con la condición de que si R_3 es CH_3, entonces R_4 y R_5 son H; y

R_6 es: alquilo de 2 a 7 carbonos, tienilo o arilo, opcionalmente sustituido con uno o más de los siguientes: alquilo de 1 a 5 carbonos, trifluorometilo o un halógeno,

con la condición de que si Y es O y R_6 es arilo, entonces el grupo arilo debe contener al menos un sustituyente

y las prostaglandinas de clase E tienen la fórmula:



en la cual:

R'_1 es hidrógeno, una parte sal catiónica, una parte amina farmacéuticamente aceptable o una parte éster farmacéuticamente aceptable derivado del alcohol correspondiente; y

R_2 es hidrógeno o una parte éster farmacéuticamente aceptable derivado del ácido carboxílico correspondiente.

La WO 94/08585 (EP 0 664 707), que pertenece también a la técnica anterior bajo el Artículo 54(3) EPC, presenta combinaciones de prostaglandinas, que pueden ser prostaglandinas de serie F, con derivados clonidina.

El artículo de Journal of Lipid Mediators, 6 (1993) 545-553, titulado “Intraocular pressure effects of selective prostanoid receptor agonists involve different receptor subtypes according to radioligand binding studies” revela la utilización de análogos de prostaglandinas como herramientas a tener en cuenta para la clasificación de receptores prostanoides. El método de prueba implica utilizar análogos de prostaglandinas en los ojos de un animal de prueba para determinar la competencia de los agentes a los distintos receptores.

Sumario de la invención

Se ha descubierto ahora de forma inesperada que el fluprostenol isopropil éster muestra una reducción significativamente mayor de la IOP que los compuestos de Stjernschantz y col., presentando a su vez un perfil de efectos secundarios similar o más bajo. En particular, parece que la adición de un grupo trifluorometilo en la posición *meta* del anillo fenoxi al final de la cadena omega proporciona un compuesto que permite una excelente reducción de la IOP sin los efectos secundarios significativos encontrados con otros compuestos muy similares.

Además, se ha descubierto también de manera inesperada que el fluprostenol isopropil éster es útil en el tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular. En particular, la aplicación tópica de las composiciones oftálmicas que comprenden fluprostenol isopropil éster provocan una reducción significativa de la IOP.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un gráfico que muestra las señales de hiperemia relativa (acumulativa) de cinco compuestos sometidos a prueba (ver Tabla 2, más abajo), uno de los cuales es un compuesto de la presente invención.

La Figura 2 es un gráfico que muestra los efectos de disminución relativa de la IOP de cinco compuestos sometidos a prueba (ver Tabla 2, más abajo), uno de los cuales es un compuesto de la presente invención. La dosis para cada uno de los compuestos sometidos a prueba fue de 0,3 µg.

La Figura 3 es un gráfico similar al de la Figura 2, que muestra los efectos de disminución relativa de la IOP a distintas concentraciones de **A** (cloprostenol isopropil éster) y **E** (13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster).

Descripción detallada de la invención

El compuesto útil de la presente invención es fluprostenol isopropil éster.

Las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos pueden formarse normalmente a partir de la forma ácida. El ácido puede convertirse en éster mediante condensación habitual con un alcohol (isopropanol) o por reacción con un electrófilo alquilo en presencia de una base, de acuerdo con los procedimientos conocidos. Ya que son bien conocidas las reacciones de esterificación no se describen aquí.

Los compuestos mencionados aquí incluyen el cloprostenol isopropil éster (Tabla 2, compuesto **A**), fluprostenol isopropil éster (compuesto **B**), la forma 3-oxa del cloprostenol isopropil éster (Tabla 1, compuesto **5**), 13,14-dihidrofluprostenol isopropil éster (compuesto **6**), cloprostenol-1-ol (compuesto **7**), y pivalato de 13,14-dihidrocloprostenol-1-ol (compuesto **8**), de los cuales sólo el fluprostenol isopropil éster (compuesto **B**) pertenece a la presente invención.

El fluprostenol isopropil éster es útil para reducir la presión intraocular y, por lo tanto, útil en el tratamiento del glaucoma. La vía de administración preferente es la vía tópica. El rango de dosificación para la administración tópica es generalmente de entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 1.000 microgramos por ojo (µg/ojo), preferentemente entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 µg/ojo y especialmente entre aproximadamente 0,05 y 10 µg/ojo. El compuesto de la presente invención puede administrarse como solución, suspensión o emulsión (dispersión) en un vehículo oftálmico adecuado.

Para elaborar composiciones de administración tópica, el compuesto de la presente invención se formula generalmente en solución conteniendo entre aproximadamente el 0,00003 hasta aproximadamente el 3 por ciento en peso (% en peso) de agua a un pH entre 4,5 y 8,0. El compuesto se formula preferentemente conteniendo entre aproximadamente un 0,0003 y aproximadamente un 0,3% en peso y, con más preferencia, entre aproximadamente un 0,003 y aproximadamente un 0,03% en peso. Aunque la dosificación exacta se deje a juicio del clínico, se recomienda que la solución resultante se aplique tópicamente colocando una gota en cada ojo, una o dos veces al día.

Entre otros ingredientes cuya utilización puede resultar deseable en las preparaciones oftálmicas de la presente invención se incluyen conservantes, codisolventes y agentes de viscosidad.

Conservantes antimicrobianos:

Los productos oftálmicos normalmente se envasan en forma multidosis, lo que suele requerir la adición de conservantes para impedir la contaminación microbiana durante su utilización. Los conservantes adecuados incluyen: cloruro de benzalconio, timerosal, clorobutanol, metilparaben, propilparaben, alcohol feniletílico, edetato disódico, ácido sórbico, Onamer M®, u otros agentes conocidos por los especialistas en este campo. Estos conservantes se emplean normalmente en una concentración de entre aproximadamente el 0,001% a aproximadamente el 1,0% en peso.

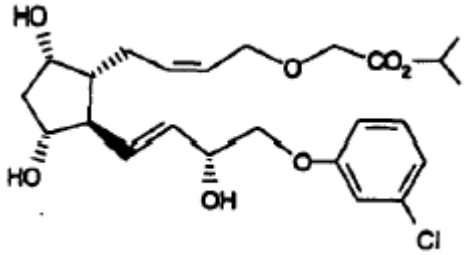
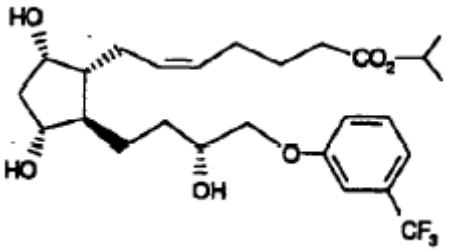
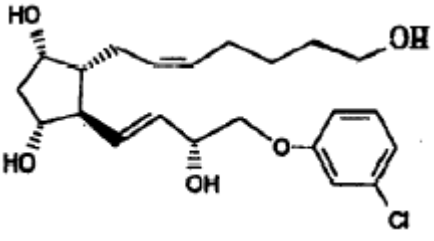
Codisolventes:

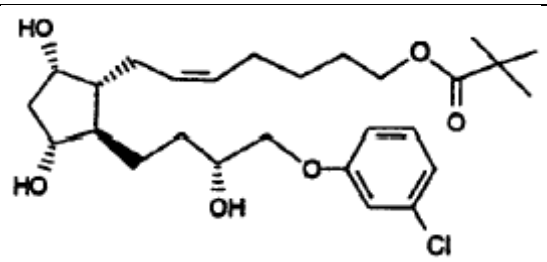
Las prostaglandinas, y particularmente sus derivados éster, poseen típicamente una solubilidad limitada en agua y, por ello, pueden necesitar un agente surfactante u otro codisolvente apropiado en la composición. Estos codisolventes incluyen: polisorbato 20, 60 y 80; Pluronic® F-68, F-84 y P-103; Tyloxapol®; Cremophor® EL, dodecilsulfato de sodio; glicerol; PEG 400; propilenglicol; ciclodextrinas; u otros agentes conocidos por los especialistas en este campo. Estos codisolventes se emplean normalmente en una concentración de entre aproximadamente el 0,01% y aproximadamente el 2% en peso.

Agentes de viscosidad:

Puede ser deseable una viscosidad superior a la de las soluciones acuosas simples para incrementar la absorción ocular del compuesto activo, para reducir la variabilidad en la distribución de las formulaciones, para disminuir la separación física de los componentes de una suspensión o emulsión de la formulación y/o en otros casos para mejorar la formulación oftálmica. Estos agentes de viscosidad incluyen, por ejemplo, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa u otros agentes conocidos por los especialistas en este campo. Estos agentes se emplean típicamente en una concentración de entre aproximadamente el 0,01% y aproximadamente el 2% en peso.

Tabla 1

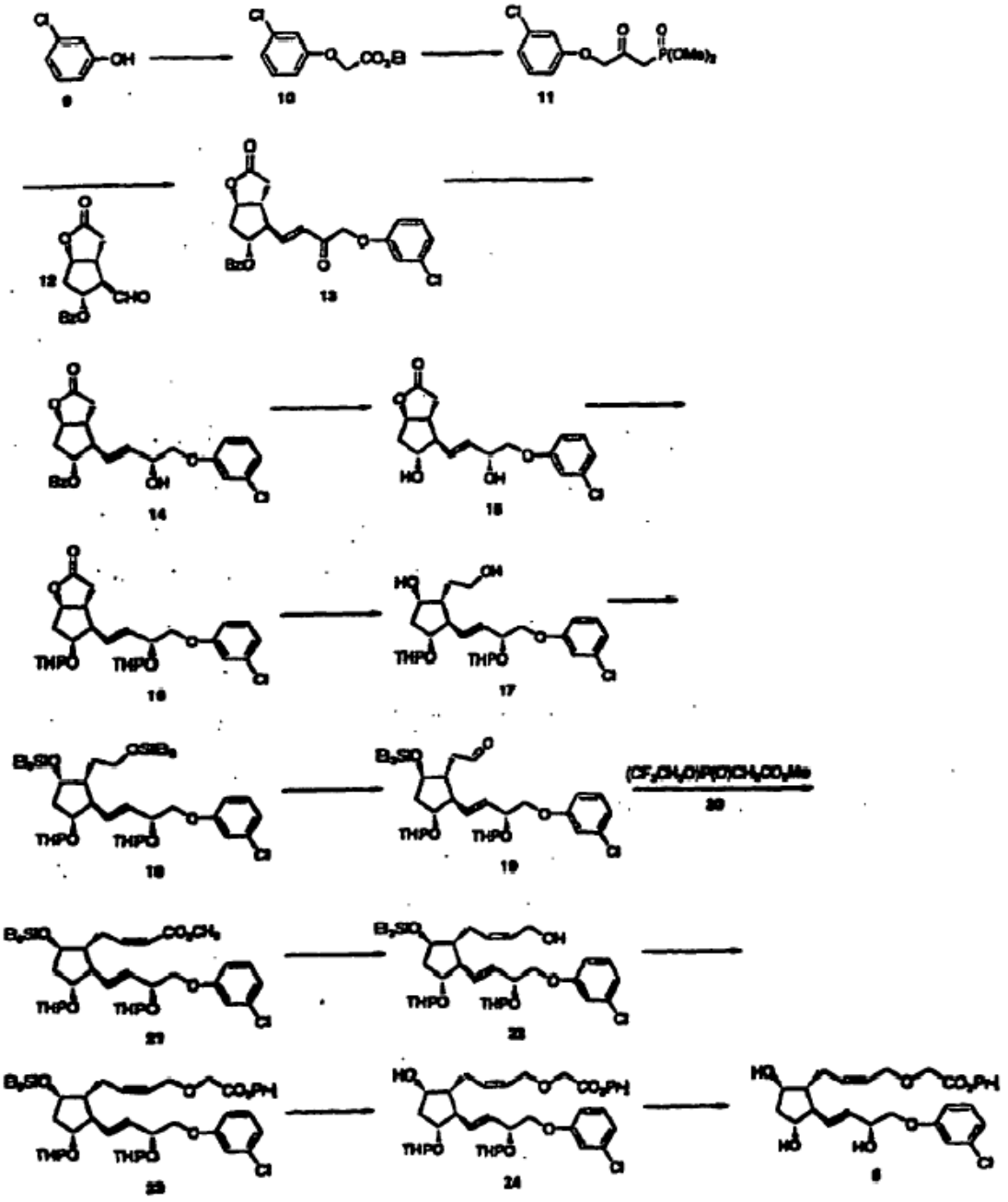
	NOMBRE DEL COMPUESTO	ESTRUCTURA DEL COMPUESTO
5	3-oxacloprostenol isopropil éster	
6	13,14-dihidrofluprostenol isopropil éster	
7	cloprostenol-1-ol	

8	pivalato de 13,14-dihidrocloprostenol-1-ol	

En los ejemplos siguientes se utilizan las siguientes abreviaturas estándar: g = gramos (mg = miligramos); mol = moles (mmol = milimoles); mol% = por ciento molar; ml = mililitros; mm Hg = milímetros de mercurio; pf = punto de fusión; pe = punto de ebullición; h = horas; y min = minutos. Además, “NMR” se refiere a la espectroscopía de resonancia magnética nuclear y “CI MS” se refiere a la espectrometría de masas en ionización química.

EJEMPLO 1 (Referencia)

Síntesis de 3-oxacloprostenol (5)



A: (3-clorofenoxi)acetato de etilo (**10**)

Se mezclaron conjuntamente acetona (320 ml), 75 g (450 mmol) de bromoacetato de etilo, y 40,0 g (310 mmol) de 3-clorofenol, luego se añadieron 69,8 g (505 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se agitó mecánicamente y se calentó a reflujo durante 4 h y, tras ser enfriada a temperatura ambiente, se vertió en 350 ml de acetato de etilo. A continuación se añadieron con precaución 400 ml de HCl 1M, teniendo cuidado de evitar una excesiva formación de espuma. Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo por partes con acetato de etilo (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, concentraron, y el sólido resultante se recristalizó a partir de hexano para proporcionar 58 g (87%) de **10** en forma de un sólido blanco, pf = 39-40ºC.

^{1}H-NMR δ = 7,20-7,08 (m, 1 H), 6,95-6,82 (m, 2 H), 6,75-6,70 (m, 1 H), 4,53 (s, 2 H), 4,21 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,23 (t, J = 7,2 Hz, 3 H)

B: [3-(3-clorofenoxi)-2-oxoprop-1-il]fosfonato de dimetilo (**11**)

A 20,6 g (166 mmol, 238 mol%) de metilfosfonato de dimetilo en 110 ml de THF a -78ºC se añadieron, gota a gota, 65 ml (162 mmol, 232 mol%) de una solución de *n*-BuLi 2,5M en hexano. Al finalizar la adición, la mezcla se agitó durante 1 h más, después de lo cual se añadieron gota a gota 15,0 g (69,9 mmol) del ariloxi éster **10** en 40 ml de THF. La reacción se agitó durante 1 h y luego se desactivó rápidamente mediante la adición de 100 ml de NH_4Cl saturado. La mezcla se vertió en 200 ml de una mezcla 1/1 de NaCl saturado/acetato de etilo, se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y se concentraron, para proporcionar 20,5 g (100 %) de **11** en forma de un aceite viscoso.

^{1}H-NMR δ = 7,22 (t, J = 8,1 Hz, 1 H), 7,05-6,90 (m, 2 H), 6,85-6,78 (m, 1 H), 4,72 (s, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 3,78 (s, 3 H), 3,27 (d, J = 22,8 Hz, 2 H)

C: (3aR,4R,5R,6aS)-5-(benzoiloxi)-4-[(E)-4-(3-clorofenoxi)-3-oxo-1-butenil]hexahidro-2*H*-ciclopenta[b]furan-2-ona (**13**)

El fosfonato **11** (20,5 g, 70,0 mmol), 2,6 g (62 mmol) de LiCl y 200 ml de THF se mezclaron conjuntamente a 0ºC y se añadieron 6,10 g (60,4 mmol) de NEt_3. Se añadió entonces gota a gota el aldehído **12** (14,0 g, 51,1 mmol) disuelto en 50 ml de CH_2Cl_2 . Después de 1 h, el medio fue vertido en 200 ml de una mezcla 1/1 de NH_4Cl saturado/acetato de etilo, se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, concentraron, y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice eluyéndose con acetato de etilo/hexano 3/2, para proporcionar 16,2 g (72%) de **13** en forma de un sólido cristalino blanco, pf = 101,0-102,0ºC.

^{1}H-NMR δ = 8,0-7,9 (m, 2 H), 7,62-7,52 (m, 1 H), 7,50-7,38 (m, 2 H), 7,18 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,0-6,82 (m, 3 H), 6,75-6,70 (m, 1 H), 6,54 (d, J = 15,1 Hz, 1 H), 5,32 (q, J = 6,2 Hz, 1 H), 5,12-5,05 (m, 1 H), 4,66 (s, 2 H), 3,0-2,8 (m, 3 H), 2,7-2,2 (m, 3 H)

D: (3aR,4R,5R,6aS)-5-(benzoiloxi)-4-[(E)-(3R)-4-(3-clorofenoxi)-3-hidroxi-1-butenil]-hexahidro-2*H*-ciclopenta[b]furan-2-ona (**14**)

A una solución de 9,70 g (22,0 mmol) de la enona **13** en 60 ml de THF a -23ºC se añadió gota a gota una solución de 11,1 g (34,6 mmol) de (-)-B-clorodiisopino-canfeilborano en 30 ml de THF. Después de 4 h, la reacción se desactivó rápidamente mediante la adición gota a gota de 5 ml de metanol y luego se calentó a temperatura ambiente. Después de verterla en 200 ml de una mezcla 2/1 de acetato de etilo/NH_4Cl saturado, se separaron las capas y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, concentraron, y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice eluyéndose con acetato de etilo/hexano 3/2, para proporcionar 4,7 g (48%) de **14** en forma de un sólido blanco, pf = 101,0-102,5ºC.

^{1}H-NMR δ = 8,05-7,95 (m, 2 H), 7,62-7,40 (m, 3 H), 7,18 (t, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,0-6,92 (m, 1 H), 6,85 (t, J = 2,1 Hz, 1 H), 6,77-6,70 (m, 1 H), 5,85 (d de d, J = 6,2, 15,5 Hz, 1 H), 5,72 (d de d, J = 4,5, 15,5 Hz, 1 H), 5,30 (q, J = 5,8 Hz, 1 H), 5,12-5,04 (m, 1 H), 4,58-4,48 (m, 1 H), 3,92 (d de d, J = 3,5, 9,3 Hz, 1 H), 3,80 (d de d, J = 7,3, 9,4 Hz, 1 H), 2,9-2,2 (m, 8 H)

E: (3aR,4R,5R,6aS)-4-[(E)-(3R)-4-(3-clorofenoxi)-3-(tetrahidropiran-2-iloxi)-1-butenil]-hexahidro-5-(tetrahidropiran-2-iloxi)-2*H*-ciclopenta[b]furan-2-ona (**16**)

A una mezcla de 5,1 g (11,5 mmol) de **14** en 200 ml de metanol se añadieron 1,7 g (12 mmol) de K_2CO_3. Después de 1 h, se vertió la mezcla en 100 ml de HCl 0,5M y se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con agua (2 x 100 ml) y NaCl saturado (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró para proporcionar 4,85 g de diol crudo **15**, que se utilizó en la siguiente fase sin más purificación.

A una mezcla de 4,85 g del crudo **15** y 2,4 g (28 mmol) de 3,4-dihidro-2*H*-pirano en 75 ml de CH_2Cl_2 a 0ºC, se añadieron 370 mg (1,9 mmol) de monohidrato de ácido *p*-toluensulfónico. Después de agitar durante 45 min, el medio se vertió en 40 ml de $NaHCO_3$ saturado, se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con CH_2Cl_2 (2 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice eluyéndose con acetato de etilo al 40% en hexano, para proporcionar 6,0 g (100%) de **16** en forma de un aceite.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ (sólo picos característicos) = 7,25-7,14 (m, 1 H), 6,95-6,87 (m, 2 H), 6,83-6,72 (m, 1 H), 5,8-5,4 (m, 4 H), 5,1-4,8 (m, 2 H)

F: (13E)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-16-(3-clorofenoxi)-2,3,4,5,6,17,18,19,20-nonanor-9-trietilsililoxi-13-prostenol trietilsilil éter **(18)**

A una suspensión de 400 mg (10,5 mmol) de hidruro de litio-aluminio en 20 ml de THF a 0ºC se añadió gota a gota una solución de 4,5 g (8,8 mmol) de la lactona **16** en 20 ml de THF. Después de 1 h a 0ºC, se vertió cuidadosamente la mezcla en 100 ml de una mezcla 1/1 de NH_4Cl saturado / acetato de etilo enfriados en hielo. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron para proporcionar 4,5 g (100%) del diol **17**, que se utilizó en la siguiente fase sin más purificación.

Se añadió cloruro de trietilsililo (3,0 g, 20 mmol) a una mezcla de 4,5 g (8,8 mmol) de **17** crudo, 40 ml de DMF, 1,85 g (27,0 mmol) de imidazol, y 310 mg (2,5 mmol) de 4-(dimetilamino)piridina. Después de 2 h, se vertió la reacción en 100 ml de una mezcla 1/1 de acetato de etilo/NH_4Cl saturado, se separaron las capas, y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 25 ml). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con agua (3 x 25 ml), se secaron sobre $MgSO_4$, y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice eluyéndose con un 20% de acetato de etilo en hexano, para proporcionar 5,2 g (80%) de **18**.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ (sólo picos característicos) = 7,22-7,12 (m, 1 H), 6,95-6,88 (m, 2 H), 6,83-6,71 (m, 1 H), 5,8-5,4 (m, 4 H), 5,1-4,8 (m, 2 H), 1,0-0,85 (m, 18 H), 0,7-0,5 (m, 12 H)

G: (13E)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-16-(3-clorofenoxi)-2,3,4,5,6,17,18,19,20-nonanor-9-trietilsililoxi-13-prostenal (**19**)

A una mezcla de 1,6 g (12,6 mmol) de cloruro de oxalilo y 15 ml de CH_2Cl_2 a -78ºC se añadió gota a gota una solución de 1,54 g (19,7 mmol) de DMSO en 2 ml de CH_2Cl_2. A los 10 min se añadieron gota a gota 4,6 g (6,2 mmol) del bissilano **18** en 8 ml de CH_2Cl_2. A los 95 min se añadieron 3,0 g (30 mmol) de NEt_3. Se calentó entonces la mezcla a temperatura ambiente y se vertió en 70 ml de NH_4Cl saturado. Se extrajo la solución con CH_2Cl_2 (3 x 70 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice eluyéndose con un 20% de acetato de etilo en hexano, para proporcionar 2,06 g (53%) de **19** así como 1,5 g (26%) de **18** recuperado.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ (sólo picos característicos) = 9,78 (t, J = 1,4 Hz, 1 H), 7,22-7,12 (m, 1 H), 6,95-6,88 (m, 2 H), 6,83-6,71 (m, 1 H), 5,8-5,4 (m, 4 H), 5,1-4,8 (m, 2 H), 1,0-0,85 (m, 18 H), 0,7-0,5 (m, 12 H)

H: metil éster del ácido (5Z,13E)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-16-(3-clorofenoxi)-2,3,4,17,18,19,20-heptanor-9-trietilsililoxi-5,13-prostadienoico (**21**)

A una solución de 1,35 g (4,24 mmol) del fosfonato **20** y 2,60 g (9,84 mmol) de 18-corona-6 en 20 ml de THF a -78ºC se añadieron gota a gota 6,9 ml (3,45 mmol) de una solución 0,5M de hexametildisilazano de potasio en tolueno. Después de agitación durante 15 min, se añadió gota a gota una solución de 1,65 g (2,64 mmol) del aldehído **19** en 20 ml de THF. Una hora después, se vertió la mezcla en 100 ml de NH_4Cl saturado/acetato de etilo 1/1, se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice eluyéndose con un 20% de acetato de etilo en hexano, para proporcionar 1,135 g (63%) de **21**.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ (sólo picos característicos) = 7,22-7,11 (m, 1 H), 6,97-6,86 (m, 2 H), 6,85-6,75 (m, 1 H), 6,4-6,2 (m, 1 H), 5,8-5,32 (m, 3 H), 3,66 (s, 3 H)

I: (5Z,13E)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-16-(3-clorofenoxi)-2,3,4,17,18,19,20-heptanor-9-trietilsililoxi-5,13-prostadien-1-ol (**22**)

A una solución de 850 mg (1,25 mmol) del éster **21** en 10 ml de THF a 0ºC se añadieron 2,4 ml (3,6 mmol) de una solución de hidruro de diisobutilaluminio 1,5M en tolueno. Después de 1 h se vertió la mezcla en 20 ml de NH_4Cl saturado y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron hasta alcanzar 800 mg (98%) de **22** en forma de un aceite.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ (sólo picos característicos) = 7,25-7,15 (m, 1 H), 6,97-6,90 (m, 2 H), 6,86-6,75 (m, 1 H), 5,81-5,41 (m, 4 H)

J: isopropil éster del ácido (5Z,13E)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-16-(3-clorofenoxi)-3-oxa-17,18,19,20-tetranor-9-trietilsililoxi-5,13-prostadienoico (**23**)

A una solución de 415 mg (6,37 mmol) del alcohol **22** en 4 ml de THF a -78ºC se añadieron gota a gota 0,35 ml (0,87 mol) de una solución de *n*-BuLi 2,5M en hexano. A los 15 min esta solución fue trasladada por medio de una jeringuilla a una solución a -78ºC de 195 mg (1,08 mmol) de bromoacetato de isopropilo en 2 ml de THF. Se mantuvo la mezcla a -78ºC durante 40 min, se calentó a temperatura ambiente durante toda la noche,

y luego se vertió en 20 ml de una mezcla 1/1 de NH_4Cl saturado/acetato de etilo. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (un 20% de acetato de etilo en hexano) para proporcionar 242 mg (53%) de **23** en forma de un aceite.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ (sólo picos característicos) = 7,24-7,15 (m, 1 H), 6,97-6,90 (m, 2 H), 6,86-6,75 (m, 1 H), 5,81-5,41 (m, 4 H), 1,57 (d, J = 5,7 Hz, 6 H)

K: isopropil éster del ácido (5Z,13E)-(9S,11R,15R)-16-(3-clorofenoxi)-3-oxa-17,18,19,20-tetranor-9,11,15-trihidroxi-5,13-prostadienoico (**5**)

A una solución de 230 mg (0,32 mmol) del silano **23** en 5 ml de THF a temperatura ambiente se añadieron 0,33 ml (0,33 mmol) de una solución 1M de Bu_4NF en THF. A los 20 min, se vertió la reacción en 4 ml de NH_4Cl saturado y se extrajo con acetato de etilo (4 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (acetato de etilo/hexano 1/1), para proporcionar 126 mg (65%) de un compuesto desililado **24**.

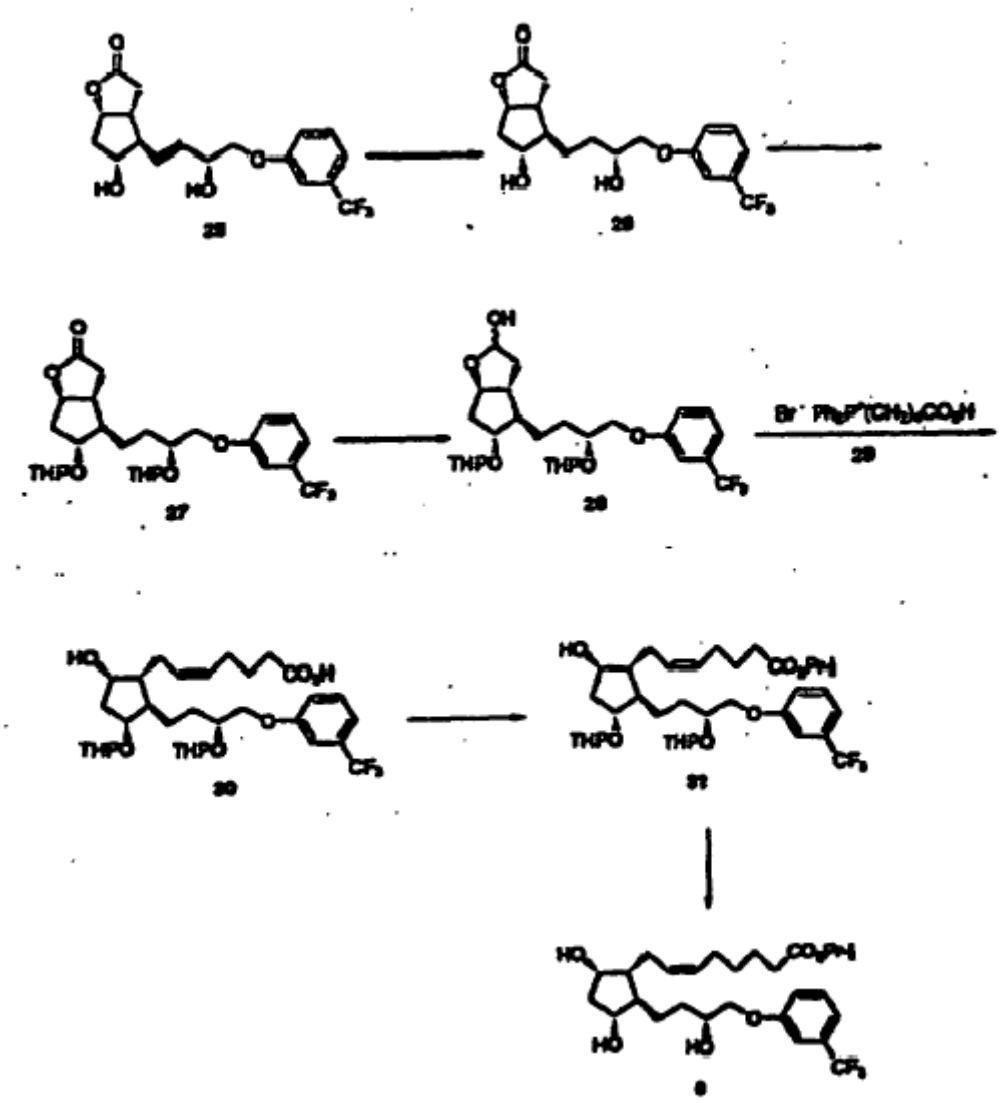
A 120 mg de **24** en 5 ml de metanol se añadieron 0,4 ml de HCl 2M. Después de 1 h, la mezcla se añadió a 3 ml de $NaHCO_3$ saturado, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 8 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron. Se cromatografió entonces el residuo resultante sobre gel de sílice eluyéndose con acetato de etilo para proporcionar 54 mg (56%) de **5**.

^{13}C-NMR ($CDCl_3$)δ = 169,92 (C), 159,26 (C), 135,13 (CH), 134,95 (CH), 134,81 (C), 124,93 (CH), 121,22 (CH), 115,06 (CH), 113,08 (CH), 77,75 (CH), 72,02 (CH), 71,94 (CH_2), 70,76 (CH_2), 68,77 (CH), 67,78 (CH_2), 66,50 (CH_2), 55,46 (CH), 49,93 (CH), 42,47 (CH_2), 25,85 (CH_2), 21,75 (CH_3)

CI MS: *m/z* calculada para $C_{24}H_{34}O_7Cl_1$ (MH^+) 469,1993, encontrada 469,1993

EJEMPLO 2 (Referencia)

Síntesis de 13,14-dihidrofluprostenol isopropil éster



A: (3aR,4R,5R,6aS)-hexahidro-5-hidroxi-4-[(3R)-4-(3-trifluorometilfenoxi)-3-hidroxi-1-butil]-2*H*-ciclopenta[b]furan-2-ona (**26**)

Una mezcla de 1,2 g (3,2 mmol) del diol **25** (para la síntesis del diol **25** ver la Patente de Estados Unidos 4.321.275) y 0,05 g de Pd/C 10%(peso / peso) en 20 ml de metanol se hidrogenó a 30 psi durante 1,5 horas. Después de filtración a través de una pequeña almohadilla de Celita, su concentración proporcionó 1,2 g de **26** en forma de un aceite incoloro.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ = 7,44 (m, 2 H), 7,12 (m, 2 H), 4,95 (dt, 1 H), 4,15-3,80 (m, 4 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 6 H)

B: (3aR,4R,5R,6aS)-hexahidro-5-(tetrahidropiran-2-iloxi)-4-[(3R)-4-(3-trifluorometilfenoxi)-3-(tetrahidropiran-2-iloxi)-1-butil]-2*H*- ciclopenta[b]furan-2-ona (**27**)

Una mezcla de 1,2 g (3,2 mmol) del diol **26** y 0,05 g de monohidrato de ácido *p*-toluensulfónico en 100 ml de CH_2Cl_2 a 0ºC se trató con dihidropirano (1,1 ml, 12 mmol) y la solución se agitó durante 2 h a 0ºC. Después de verterla en $NaHCO_3$ saturado, se separaron las fases y se secó la capa orgánica sobre $MgSO_4$, se filtró, se concentró, y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (1/1, hexano/EtOAc) para proporcionar 1,1 g de **27** en forma de un aceite transparente, incoloro.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ = 8,04 (dd, J = 7,0, 1,6, 1 H), 7,44 (m, 2 H), 7,12 (m, 1 H), 4,95 (dt, 1 H), 4,8 (m, 1 H), 4,7 (m, 2 H), 4,15-3,80 (m, 4 H), 3,5 (m, 2 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 6 H)

C: isopropil éster de ácido (5Z)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-9-hidroxi-17,18,19,20-tetranor-16-(3-trifluorometilfenoxi)-5-prostenoico (**31**)

A una solución de 2,1 g (3,9 mmol) de **27** en 100 ml de THF a -78ºC se añadieron 3,9 ml (5,8 mmol) de una solución 1,5M de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno. Se agitó la solución durante 2 h, luego se desactivó rápidamente mediante adición secuencial de 0,4 ml de isopropanol a -78ºC seguido de 0,4 ml de agua a 23ºC. Se eliminaron los volátiles a baja presión y la solución acuosa se extrajo con Et_2O/EtOAc (1/1). Los extractos orgánicos se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y se concentraron para proporcionar 1,9 g del lactol **28**.

A un matraz redondo de 3 bocas de 250 ml de fondo provisto de un agitador mecánico y un termómetro se añadió DMSO anhidro (100 ml) y NaH (dispersión al 80% en aceite mineral; 0,48 g, 16 mmol). Se calentó la mezcla a 75ºC (interno) durante 30 min, después de lo cual se dejo enfriar a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió entonces bromuro de fosfonio **29** (3,5 g, 8 mmol). Después de agitación durante 30 minutos, se añadieron 1,9 g (3,5 mmol) del lactol **28** en 50 ml de DMSO, y se calentó la solución resultante a 50ºC durante 2 h y se llevó luego a temperatura ambiente durante 16 h. Se vertió entonces la solución en 100 ml de agua y se añadieron aproximadamente 2 ml de NaOH al 50%. Se extrajo la fase acuosa con éter (3 x 100 ml), luego se aciduló (pH = 5,5) mediante adición de una disolución de ácido cítrico al 10% y se extrajo con Et_2O:hexano 2:1 (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y se concentraron para proporcionar 1,9 g de **30** en forma de un aceite incoloro.

A 1,9 g del ácido carboxílico **30** disuelto en 10 ml de acetona se añadieron 0,95 g (6,0 mmol) de DBU y 1,0 g (6,1 mmol) de yoduro de isopropilo a 23ºC. Después de 16 h, la solución se vertió en 100 ml de agua y se extrajo con 100 ml de EtOAc. El extracto orgánico se secó sobre $MgSO_4$, se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (3/2, hexano/EtOAc) para proporcionar 1,9 g del isopropil éster **31** en forma de un aceite incoloro.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ = 7,44 (t, 1 H), 7,12 (d, 1 H), 7,12 (dd, 2 H), 5,5-5,3 (m, 2 H), 4,99 (heptet, 1 H) 4,15-3,80 (m, 4 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 24 H), 1,23 (s, 3 H), 1,20 (s, 3 H)

D: isopropil éster de ácido (5Z)-(9S,11R,15R)-17,18,19,20-tetranor-16-(3-trifluorometil)-9,11,15-trihidroxi-5-prostenoico (**6**)

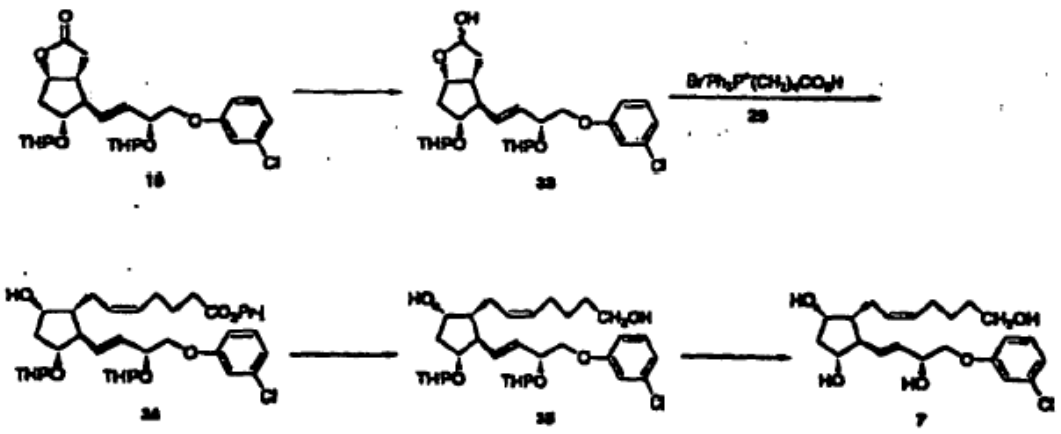
Se disolvió el éster **31** (1,9 g, 2,8 mmol) en 14 ml de una mezcla AcOH/THF/H_2O (4/2/1) y se calentó la solución a 50ºC durante 1 h, se dejó enfriar a 23ºC, se vertió en una disolución saturada de $NaHCO_3$, y se extrajo con Et_2O (2 x 100 ml) y EtOAc (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía de gel de sílice (1/1, hexano/EtOAc) para proporcionar 0,5 g del triol **6** en forma de un aceite transparente, incoloro.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) δ = 7,44 (t, J = 7,8, 1 H), 7,12 (dd, J = 7,8, 2,0, 1 H), 7,12 (ddd, J = 15,6, 7,2, 2,0, 2 H), 5,5-5,3 (m, 2 H), 4,99 (heptet, J = 6,3, 1 H), 4,15-3,80 (m, 4 H), 3,2 (d, 1 H), 2,95 (s, 1 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,75 (d, J = 5,9, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 24 H), 1,23 (s, 3 H), 1,20 (s, 3 H)

CMR ($CDCl_3$) δ = 173,5; 158,7; 132,1; 131,5; 130,0; 129,5; 129,2; 123,3; 120,8; 117,7; 117,6; 111,4; 111,4; 78,6; 74,4; 72,4; 69,9; 67,6; 52,6; 51,7;42,5; 34,0; 31,5; 29,4; 26,8; 26,6; 24,9; 21,7

EJEMPLO 3 (Referencia)

Síntesis de cloprostenol-1-ol (7)



A: isopropil éster de ácido (5Z,13E)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-16-(3-clorofenoxi)-9-hidroxi-17,18,19,20-tetranor-5,13-prostadienoico (**34**)

Se añadió gota a gota una solución 1,5M de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (10 ml, 15 mmol) a una solución de 5,8 g (11,4 mmol) de la lactona **16** en 55 ml de THF a -78ºC. Después de 1 h, se añadieron gota a gota 10 ml de metanol, y la mezcla se agitó durante 10 min a -78ºC antes de calentarse a temperatura ambiente. La mezcla se vertió entonces en 100 ml de una solución 1/1 de acetato de etilo/tartrato de sodio-potasio saturado acuoso y se agitó. Después de separar las capas, se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía de gel de sílice (3/2, acetato de etilo/hexano) para proporcionar 4,4 g (76%) del lactol **33**, que se utilizó inmediatamente en la fase siguiente.

Se añadió gota a gota una solución de 1M de t-butóxido potásico en THF (50,0 ml) a 12,1 g (27,3 mmol) de la sal de fosfonio **29** en 100 ml de THF a 0ºC. A los 30 min se añadió gota a gota una solución de 4,4 g (8,6 mmol) del lactol **33** en 20 ml de THF, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Se vertió entonces la solución en 150 ml de una mezcla 1/1 de acetato de etilo/NH_4Cl saturado. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y el residuo se volvió a disolver en 80 ml de acetona. A esto se añadieron 6,5 g (45 mmol) de DBU seguido de 7,3 g (43 mmol) de yoduro de isopropilo. Después de agitar durante toda la noche, la reacción se vertió en 100 ml de una mezcla 1/1 de acetato de etilo/NH_4Cl saturado. Se separaron entonces las capas y se extrajo luego la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se purificaron mediante cromatografía de gel de sílice (40% de acetato de etilo en hexano) para proporcionar 2,92 g (53% procedente de la lactona **16**) del éster **34**.

B: (5Z,13E)-(9S,11R,15R)-16-(3-clorofenoxi)-17,18,19,20-tetranor-9,11,15-trihidroxi-5,13-prostadienol (**7**)

Se añadió gota a gota una solución de 500 mg (0,79 mmol) de **34** en 10 ml de THF a 61 mg (1,60 mmol) de hidruro de litio-aluminio en 20 ml de THF a 0ºC. A los 40 min se vertió la reacción en 15 ml de NH_4Cl saturado, y se extrajo entonces la mezcla con acetato de etilo (3 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron para proporcionar 500 mg del producto crudo **35**.

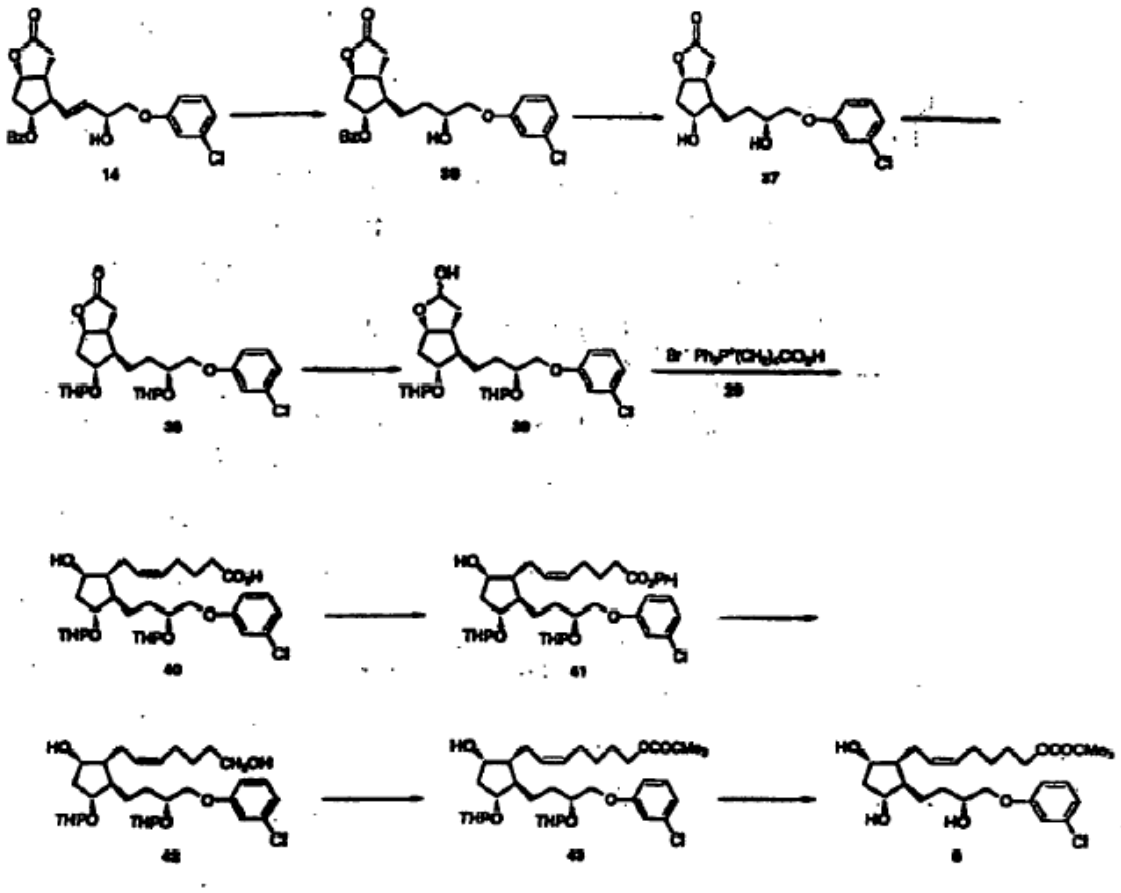
A una solución de 500 mg de **35** en 20 ml de metanol se añadieron 0,5 ml de HCl 2M. Después de 1 h, se desactivó rápidamente la reacción con 20 ml de $NaHCO_3$ saturado y se extrajo la mezcla con acetato de etilo (4 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. La cromatografía en gel de sílice (EtOAc) proporcionó 101 mg (31% procedente de **34**) de **7**.

^{13}C-NMR ($CDCl_3$)δ = 159,27 (C), 135,44 (CH), 134,82 (C), 130,64 (CH), 130,26 (CH), 128,23 (CH), 121,25 (CH), 115,07 (CH), 113,08 (CH), 77,35 (CH), 72,35 (CH), 71,90 (CH_2), 70,89 (CH), 62,22 (CH_2), 55,40 (CH), 49,87 (CH), 42,79 (CH_2), 31,83 (CH_2), 26,77 (CH_2), 25,60 (CH_2), 25,33 (CH_2)

CI MS: *m/z* calcd para $C_{22}H_{32}O_5Cl_1$ (MH^+) 411,1938, encontrado 411,1938

EJEMPLO 4 (Referencia)

Síntesis de pivalato de 13,14-dihidrocloprostenol-1-ol (8)



A: (3aR,4R,5R,6aS)-4-[(3R)-4-(3-clorofenoxi)-3-hidroxibutil]-hexahidro-5-hidroxi-2*H*-ciclopenta[b]furan-2-ona (**37**)

Una mezcla de 2,4 g (5,4 mmol) de **14** y 250 mg de Pd/C 10% (peso/peso) en 35 ml de acetato de etilo se hidrogenó a 40 psi durante 1 h. Después de filtración a través de una pequeña almohadilla de Celita, el filtrado se evaporó hasta llegar a 2,3 g (100%) del producto hidrogenado **36**.

El benzoato crudo **36** se disolvió en 25 ml de metanol, y se añadieron 610 mg (4,4 mmol) de K_2CO_3. Después de 3,5 h, se vertió la mezcla en 100 ml de agua/acetato de etilo (1/1). Se separaron las capas, y se extrajo luego la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. La cromatografía de gel de sílice (EtOAc) proporcionó 1,50 g (82%) de **37** en forma de un sólido blanco, pf = 102,0-103,5ºC.

^{1}H-NMR δ = 7,22 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,0-6,94 (m, 1 H), 6,91-6,88 (t, J = 2,1 Hz, 1 H), 6,83-6,77 (m, 1 H), 4,97 (dt, J = 3,0, 8,3 Hz, 1 H), 4,12-3,91 (m, 3 H), 3,82 (dd, J = 7,4, 9,0 Hz, 1 H), 2,85 (dd, J = 8,0, 16,5 Hz, 1 H), 2,6-1,4 (m, 11 H)

B: (3aR,4R,5R,6aS)-4-[(3R)-4-(3-clorofenoxi)-3-(tetrahidropiran-2-iloxi)butil]-hexahidro-5-(tetrahidropiran-2-iloxi)-2*H*-ciclopenta[b]furan-2-ona (**38**)

El diol **37** (3,4 g, 10 mmol) y 2,2 g (26 mmol) de 3,4-dihidro-2*H*-pirano se disolvieron en 80 ml de CH_2Cl_2 y se añadieron, a 0ºC, 240 mg (1,3 mmol) de monohidrato de ácido *p*-toluensulfónico. Después de 1 h, se vertió la reacción en 50 ml de $NaHCO_3$ saturado y se extrajo la mezcla con CH_2Cl_2 (3 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (hexano/acetato de etilo, 1/1) para proporcionar 4,5 g (87%) del éter bis-THP **38**.

C: isopropil éster de ácido (5Z)-(9S,11R,15R)-11,15-bis(tetrahidropiran-2-iloxi)-16-(3-clorofenoxi)-9-hidroxi-17,18,19,20-tetranor-5-prostenoico (**41**)

Se añadió una solución 1,5M de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (1,8 ml, 2,7 mmol) a la solución de 1,05 g (2,06 mmol) de **38** en 10 ml de THF a -78ºC. Después de 1 h, se añadieron 4 ml de metanol y se calentó la mezcla a 25ºC, a continuación se vertió en 40 ml de acetato de etilo/tartrato de sodio- potasio acuoso saturado (1/1). Se separaron las capas y se extrajo luego la fase acuosa con acetato de etilo (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (acetato de etilo) para proporcionar 740 mg (70%) del lactol **39**.

Se añadió gota a gota una solución 1,5M de t-butóxido potásico en THF (8,6 ml, 8,6 mmol) a una mezcla de 15 ml de THF y 1,92 g (4,33 mmol) de la sal de fosfonio **29** a 0ºC. Después de agitar durante 1 h, se añadió gota a gota una solución de 740 mg (1,45 mmol) del lactol **39** en 5 ml de THF y se dejó calentar la reacción hasta 25ºC durante toda la noche. Se vertió entonces la mezcla en 100 ml de acetato de etilo/NH_4Cl saturado (1/1). Se separaron las capas y se extrajo luego la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 70 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron para proporcionar 1,6 g del ácido bruto **40**.

El ácido bruto **40** (1,6 g) se disolvió en 11 ml de acetona y se enfrió a 0ºC, luego se añadieron gota a gota a la solución 850 mg (5,6 mmol) de DBU. La mezcla resultante se agitó durante 15 min a 0ºC y 30 min a 25ºC, después de lo cual se añadieron 850 mg (5,0 mmol) de yoduro de isopropilo. La reacción se agitó durante toda la noche, se vertió en 100 ml de acetato de etilo/NH_4Cl saturado (1/1). Se separaron las capas y se extrajo luego la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 3/2) para proporcionar 560 mg (61% procedente del lactol **39**) del isopropil éster **41**.

D: pivalato de (5Z)-(9S,11R,15R)-16-(3-clorofenoxi)-17,18,19,20-tetranor-9,11,15-trihidroxi-5-prostenilo (**8**)

Se añadió gota a gota una solución de 400 mg (0,63 mmol) de **41** en 5 ml de THF a una suspensión de 35 mg (0,92 mmol) de hidruro de litio-aluminio en 5 ml de THF a 0ºC. Después de 2 h, se vertió la reacción en 50 ml de una mezcla al 1/1 de acetato de etilo/$NaHCO_3$ saturado. Se separaron entonces las capas y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 2 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo) para proporcionar 350 mg (95%) del diol **42**.

Se añadió cloruro de pivaloílo (90 mg, 0,75 mmol) a una mezcla de 350 mg (0,60 mmol) de **42**, 60 mg (0,76 mmol) de piridina, 22 mg (0,18 mmol) de 4-(dimetilamino)piridina, y 7 ml de CH_2Cl_2. Después de 1,5 h, se vertió la mezcla en 30 ml de NH_4Cl saturado/acetato de etilo (1/1). Se separaron entonces las capas y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, se concentraron y se purificaron por cromatografía de gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 3/2) para proporcionar 370 mg (93%) del pivalato **43**.

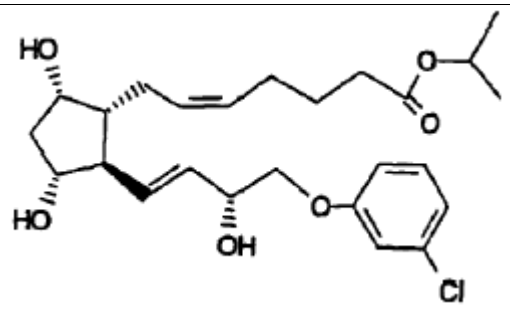
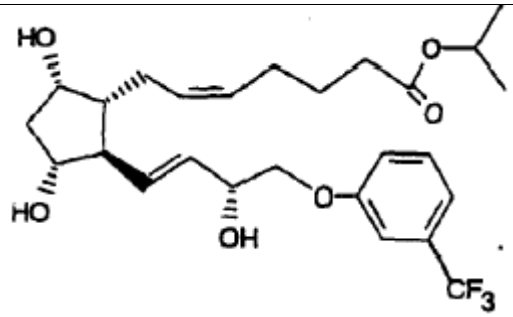
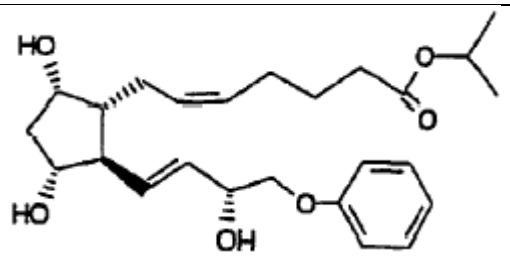
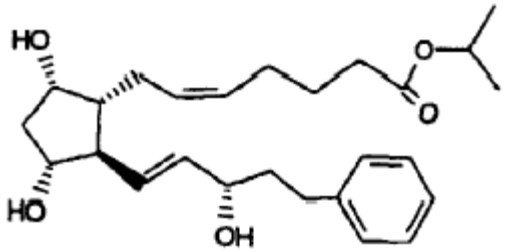
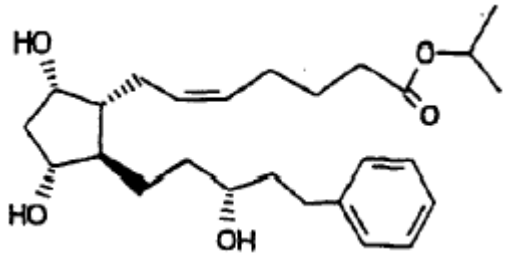
Se añadió agua (10 gotas) y HCl concentrado (3 gotas) a una solución de 370 mg (0,56 mmol) de **43** en 5 ml de metanol. Después de agitar durante toda la noche, se desactivó rápidamente la reacción mediante adición de 20 ml de $NaHCO_3$ saturado, y se extrajo la mezcla con acetato de etilo (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 3/2), para proporcionar 165 mg (59%) del triol **8**.

^{13}C-NMR ($CDCl_3$)δ = 178,77 (C), 159,27 (C), 134,80 (C), 130,20 (CH), 128,62 (CH), 121,19 (CH), 114,97 (CH), 112,97 (CH), 78,50 (CH), 74,46 (CH), 72,31 (CH_2), 69,86 (CH), 64,16 (CH_2), 52,53 (CH), 51,67 (CH), 42,50 (CH_2), 31,51 (CH_2), 29,40 (CH_2), 28,10 (CH_2), 27,12 (CH_3), 26,77 (CH_2), 26,65 (CH_2), 25,77 (CH_2)

CI MS, *m/z* calcd para $C_{27}H_{41}O_6Cl_1$ (MH^+), 497,2670, encontrado 497,2656.

Los estudios detallados en los siguientes Ejemplos 5-9 comparaban la actividad de disminución de la IOP y los efectos secundarios de cinco compuestos: A) cloprostenol isopropil éster; B) fluprostenol isopropil éster; C) 16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster; D) 17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$, isopropil éster; y E) 13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster (latanoprost). Las estructuras de estos compuestos vienen indicadas en la Tabla 2 siguiente.

Tabla 2

	NOMBRE DEL COMPUESTO	ESTRUCTURA DEL COMPUESTO
A	Cloprostenol isopropil éster	
B	Fluprostenol isopropil éster	
C	16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster	
D	17-fenilo-18,19,20-trinor$PGF_{2\alpha}$ isopropil éster	
E	13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster	

Como se observa en la Tabla 2, los cinco compuestos difieren tan sólo algo en su estructura; sin embargo, como lo mostrarán los Ejemplos 5 y 6, estas diferencias estructurales aparentemente pequeñas producen unos efectos de disminución de la IOP y unos niveles de hiperemia muy diferentes.

EJEMPLO 5

Se ensayaron los compuestos **A-E** (Tabla 2 anterior) para estudiar la hiperemia en conejillos de Indias. El objetivo del modelo de hiperemia conjuntival del conejo de Indias consiste en proporcionar una indicación selectiva primaria del potencial de una prostaglandina para inducir hiperemia conjuntival en los seres humanos.

Se mantuvieron los conejillos de Indias en sus jaulas durante el estudio y se sacaron solamente para puntuar y dosificar. Los ojos se evaluaron mediante una lente de aumento con iluminación fluorescente y las puntuaciones sobre la hiperemia conjuntival se registraron en cuanto a la conjuntiva bulbar superior según los siguientes criterios:

0 = Aspecto normal de los vasos en el reborde y en el músculo recto superior

+1 = Dilatación de los vasos normalmente visible en el limbo y en el músculo recto superior

+2 = Rama de vasos en el limbo, nuevos vasos visibles

+3 = Nuevos vasos visibles en las zonas conjuntivales bulbares abiertas

+4 = Enrojecimiento difuso en las zonas conjuntivales bulbares abiertas

Las puntuaciones de 0 ó 1 indicaban que no había hiperemia y las puntuaciones 2-4 indicaban hiperemia (indicando la puntuación 4 una mayor hiperemia). Se permitieron solamente puntuaciones enteras con el fin de minimizar la subjetividad.

Las observaciones control se realizaron antes de la dosificación unilateral con una parte alícuota de 10 µL de la formulación de prostaglandina a ensayar o de la formulación control, seguidas de observaciones tras 1, 2, 3 y 4 horas después de la dosificación. Los grupos estaban compuestos normalmente de 4 animales, pero se ampliaban hasta ocho animales por grupo. Los resultados del estudio aparecen en la Tabla 3 siguiente, como frecuencia porcentual de cada puntuación, y en la Figura 1 como incidencia porcentual de hiperemia, definida como porcentaje de las puntuaciones de +2 ó +3 con respecto al número total de observaciones por cada dosis.

Tabla 3 Hiperemia Conjuntival en el Conejillo de Indias**

Compuesto (isopropil éster)	**Dosis de Prostaglandina**																			
	0,03 µg					**0,1 µg**					**0,3 µg**					**1,0 µg**				
	Puntuación				**N***	**Puntuación**				**N***	**Puntuación**				**N***	**Puntuación**				**N***
	0	**1**	**2**	**3**		**0**	**1**	**2**	**3**		**0**	**1**	**2**	**3**		**0**	**1**	**2**	**3**	
A(Cloprostenol)	40	60	0	0	5	60	33	7	0	23	23	61	13	3	21	18	59	19	4	23
B(Fluprostenol)	17	70	13	0	6	12	88	0	0	6	17	50	29	4	6	21	60	13	6	12
C(16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$)	33	54	13	0	6	4	71	25	0	6	0	0	62	38	6	0	4	33	63	6
D(17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$)	46	54	0	0	6	23	62	13	2	12	10	61	27	2	12	15	56	17	12	12
E(13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$)	80	20	0	0	5	75	25	0	0	5	40	60	0	0	5	39	56	6	0	9

* Número de animales sometidos a prueba

** Los números indican la incidencia porcentual para esta puntuación

Análisis:

El compuesto **C** (16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster) produce una hiperemia significativa a dosis bajas, y a dosis de 0,3 y 1,0 µg, todos los ojos recibieron una o más puntuaciones de +3. El compuesto **D** (17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster) produce menos hiperemia que el compuesto **C**, pero significativamente más que el compuesto **E** (13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster), que produce tan sólo poca hiperemia. La hiperemia producida por el compuesto **A** (cloprostenol isopropil éster) y el compuesto **B** (fluprostenol isopropil éster) parece ser intermedia entre la del compuesto **D** y del compuesto **E**.

EJEMPLO 6

En el siguiente estudio se ensayaron los compuestos **A-E** (Tabla 2 anterior) para determinar el efecto de reducción de la IOP en los ojos del mono Cynomolgus.

Se realizó previamente a los ojos derechos de los monos Cynomolgus utilizados en este estudio una trabeculoplastia láser para inducir la hipertensión ocular en el ojo tratado con láser. Los animales fueron amaestrados para sentarse en sillas estrechas y condicionados para aceptar procedimientos experimentales sin restricción química. La IOP se determinó con un neumatonómetro después de una ligera anestesia corneal con proparacaína diluida. El protocolo de prueba incluía un régimen de tratamiento de cinco dosis debido a la normal respuesta retardada a las prostaglandinas. Las formulaciones de prueba designadas se administraron a los ojos derechos sometidos a láser, y los ojos izquierdos normales permanecieron sin tratamiento, aunque les hicieron mediciones de la IOP. Los valores control de la IOP se determinaron antes del tratamiento con la formulación de prueba, y se determinó entonces la IOP de 1 hasta 7 horas después de la primera dosis, 16 horas después de la cuarta dosis y de 1 a 4 horas después de la quinta dosis. Los resultados se presentan en las Tablas 4 y 5 siguientes, y en las Figuras 2 y 3, como reducción porcentual media de la IOP a partir de la referencia base ± SEM. Las dosis de prostaglandina están en microgramos de compuesto contenido en cada tratamiento con 10 µL de la formulación de prueba. En la Tabla 4, la misma cantidad (0,3 µg) de cada uno de los compuestos **A-E** se comparó en cuanto a la reducción de la IOP. En la Tabla 5, varias cantidades del compuesto **A** (0,3 y 1,0 µg) se compararon con varias cantidades del compuesto **E** (0,3, 1,0 y 3,0 µg) con el fin de determinar las respuestas a las dosis de los dos distintos compuestos.

Tabla 4 Reducción porcentual de la IOP en monos cynomolgus sometidos a láser

Compuesto (isopropil éster)	**IOP línea base (mm Hg)**	**Reducción porcentual de la IOP (horas después de la última dosis / dosis#)**			
		16/4	**2/5**	**4/5**	**6/5**
A (Cloprostenol)	36,9	23,6 ± 3,3	30,2 ± 4,5	31,2 ± 6,8	24,4 ± 6,9
B (Fluprostenol)	41,6	18,4 ± 5,9	31,2 ± 3,7	30,3 ± 3,8	26,6 ± 3,6
C(16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor $PGF_{2\alpha}$)	38,2	30,2 ± 4,4	25,3 ± 4,5	23,6 ± 3,8	28,9 ± 3,0
D(17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$)	40,8	25,6 ± 2,6	36,0 ± 2,4	39,8 ± 3,1	30,3 ± 2,8
E(13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$)	39,7	7,6 ± 2,9	3,6 ± 2,7	7,5 ± 2,7	8,0 ± 3,4

Tabla 5 Comparación de la reducción porcentual de la IOP

Compuesto	Dosis (µg)	IOP línea base (mm Hg)	Reducción porcentual de la IOP (horas después de la última dosis / dosis#)			
			16/4	2/5	4/5	6/5
A*	0,3	36,9	23,6 ± 3,3	30,2 ± 4,5	31,2 ± 6,8	24,4 ± 6,9
A	1	39,6	34,8 ± 4,5	36,7 ± 5,8	38,7 ± 5,9	35,8 ±5,1
E	0,3	39,7	7,6 ± 2,9	3,6 ± 2,7	7,5 ± 2,7	8,0 ± 3,4
E**	1	38,9	23,2 ± 3,6	22,0 ± 4,0	18,8 ± 5,2	20,2 ± 4,0
E	3	30,1	11,6 ± 6,5	17,6 ± 5,8	13,1 ± 5,0	12,7 ± 5,0

* Cloprostenol isopropil éster
** 13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster

Análisis:

La Tabla 4 muestra que los compuestos **A, B, C** y **D** producen grados similares de reducción de la IOP a dosis de 0,3 µg; sin embargo, el compuesto **E** es esencialmente inactivo a esta dosis.

En la Tabla 5 se observa que la reducción de la IOP con 1 µg del compuesto **A** es superior a la producida por 0,3 µg del compuesto **A**, y la respuesta a cualquiera de estas dosis del compuesto **A** es mayor que la reducción máxima producida por cualquiera de las dosis del compuesto **E**. Estas observaciones indican que el compuesto **A** (cloprostenol isopropil éster) es más potente y que produce una respuesta máxima mayor para la reducción de la IOP que el compuesto **E** (13,14-dihidro-17-fenil-18,19, 20-trinor $PGF_{2\alpha}$).

EJEMPLO 7

Es sabido que los análogos de $PGF_{2\alpha}$ contraen el esfínter del iris de los gatos y este ensayo es una referencia generalmente aceptada para su actividad. Por esta razón, el diámetro de la pupila de los gatos puede utilizarse para definir la actividad de los análogos de $PGF_{2\alpha}$ y, tal como se demostró en Stjernschantz and Resul (Drugs Future, 17: 691-704 (1992)), predecir la potencia de reducción de la IOP.

Por tanto, los compuestos de la presente invención fueron estudiados en cuanto a la constricción de las pupilas del gato. En la Tabla 6 siguiente se muestran los datos para los compuestos **6, 7** y **8**. La respuesta se cuantificó como valores de $Área_{1\text{-}5}$ (área por debajo del diámetro de la pupila con respecto a curva temporal de 1 a 5 horas), y la dosis de respuesta equivalente (ED_5) se estima a partir de sus relaciones de respuesta a la dosis.

Tabla 6 Respuesta del diámetro de la Pupila del gato

Compuesto	ED_5 (µg)
$PGF_{2\alpha}$ isopropil éster	0,02
Cloprostenol isopropil éster	0,01
6	0,2
7	0,02
8	0,06

Análisis

Los dos compuestos estándar, $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster y cloprostenol isopropil éster, produjeron un cambio notable en el diámetro pupilar del gato, mostrando valores ED_5 de 0,02 y 0,01 µg, respectivamente. El compuesto **7** (cloprostenol-1-ol) y el compuesto **8** (pivalato de 13,14-dihidrocloprostenol-1-ol), mostró una potencia casi equivalente. El 13,14-dihidrofluprostenol isopropil éster (compuesto **6**) tenía aproximadamente un orden de magnitud menos potente, con un ED_5 de 0,2 µg.

EJEMPLO 8

En el estudio presentado a continuación, el compuesto **6** (Tabla 1 anterior) fue sometido a prueba para estudiar el efecto de reducción de la IOP en los ojos del mono Cynomolgus.

Los ojos derechos de los monos Cynomolgus utilizados en este estudio fueron tratados previamente por trabeculoplastia láser para inducir hipertensión ocular en el ojo sometido a láser. Los animales fueron amaestrados para sentarse en sillas estrechas y condicionados para aceptar procedimientos experimentales sin restricción química. La IOP se determinó con un neumatonómetro después de una ligera anestesia corneal con proparacaína diluida. El protocolo de prueba incluía un régimen de tratamiento de cinco dosis debido a la normal respuesta retardada a las prostaglandinas. Las formulaciones de prueba designadas se administraron a los ojos derechos sometidos a láser, y los ojos izquierdos normales permanecieron sin tratamiento, aunque se tomaron medidas de la IOP. Los valores base de la IOP se determinaron antes del tratamiento con la formulación a probar, y se determinó entonces la IOP de 1 hasta 7 horas después de la primera dosis, 16 horas después de la cuarta dosis y de 1 a 4 horas después de la quinta dosis.

La dosis de respuesta equivalente (ED_{20}) se estima a partir de las relaciones de respuesta de la dosis que se supone produce un 20% de reducción máxima en la IOP.

Tabla 7 IOP respuesta del mono

Compuesto	**ED_{20} (µg)**
$PGF_{2\alpha}$ isopropil éster	0,4
6	0,3

Análisis

Como puede verse en la Tabla 7 anterior, el compuesto **6**, el análogo 13,14-dihidro de fluprostenol, era bastante potente en el modelo de IOP del mono, produciendo una reducción del 20% a 0,3 µg. Esta era todavía más potente que en el compuesto estándar, $PGF_{2\alpha}$ isopropil éster.

EJEMPLO 9

Las siguientes Formulaciones 1-8 son composiciones farmacéuticas de uso tópico para la reducción de la presión intraocular aunque se incluyan las Formulaciones 1-3 y 5-8 como referencia solamente. Cada una de las Formulaciones 1 a 8 puede ser formulada de acuerdo con los procedimientos conocidos por los especialistas en el campo.

FORMULACIÓN 1

Ingredientes	**Cantidad (% en peso)**
Cloprostenol isopropil éster (Tabla 2, Compuesto **A)**	0,002
Dextran 70	0,1
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,3
Cloruro de sodio	0,77
Cloruro de potasio	0,12
EDTA de disodio (edetato disódico)	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
HCl y/o NaOH	pH 7,2 - 7,5
Agua purificada	q.s. al 100%

FORMULACIÓN 2

Ingredientes	Cantidad (% en peso)
Cloprostenol t-butil éster	0,01
Fosfato de sodio monobásico	0,05
Fosfato de sodio dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA de disodio (edetato disódico)	0,01
Cloruro de benzalconio	0,02
Polisorbato 80	0,15
HCl y/o NaOH	pH 7,3 - 7,4
Agua purificada	q.s. al 100%

FORMULACIÓN 3

Ingredientes	Cantidad (% en peso)
Cloprostenol metil éster	0,001
Dextran 70	0,1
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,5
Fosfato de sodio monobásico	0,05
Fosfato de sodio dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA de disodio (edetato disódico)	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
NaOH y/o HCl	pH 7,3 - 7,4
Agua purificada	q.s. al 100%

FORMULACIÓN 4

Ingredientes	Cantidad (% en peso)
Fluprostenol isopropil éster (Tabla 2, Compuesto **B**)	0,003
Fosfato de sodio monobásico	0,05
Fosfato de sodio dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA de disodio (edetato disódico)	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
HCl y/o NaOH	pH 7,3 - 7,4
Agua purificada	q.s. al 100%

FORMULACIÓN 5

Ingredientes	Cantidad (% en peso)
Compuesto **5** (Tabla 1)	0,002
Dextran 70	0,1
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,3
Cloruro de sodio	0,77
Cloruro de potasio	0,12
EDTA de disodio	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
HCl y/o NaOH	pH 7,2 - 7,5
Agua purificada	q.s. al 100%

FORMULACIÓN 6

Ingredientes	Cantidad (% en peso)
Compuesto **6** (Tabla 1)	0,01
Fosfato de sodio monobásico	0,05
Fosfato de sodio dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA de disodio	0,01
Cloruro de benzalconio	0,02
Polisorbato 80	0,15
HCl y/o NaOH	pH 7,3 - 7,4
Agua purificada	q.s. al 100%

FORMULACIÓN 7

Ingredientes	Cantidad (% en peso)
Compuesto **7** (Tabla 1)	0,001
Dextran 70	0,1
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,5
Fosfato de sodio monobásico	0,05
Fosfato de sodio dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA de disodio	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
NaOH y/o HCl	pH 7,3 - 7,4
Agua purificada	q.s. al 100%

FORMULACIÓN 8

Ingredientes	Cantidad (% en peso)
Compuesto **8** (Tabla 1)	0,003
Fosfato de sodio monobásico	0,05
Fosfato de sodio dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA de disodio	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
HCl y/o NaOH	pH 7,3 - 7,4
Agua purificada	q.s. al 100%

Reivindicaciones

1. Utilización de fluprostenol isopropil éster como único ingrediente activo en la fabricación de un medicamento de administración tópica para el tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular.

Figura 1
Hiperemia conjuntival en el Conejo de Indias

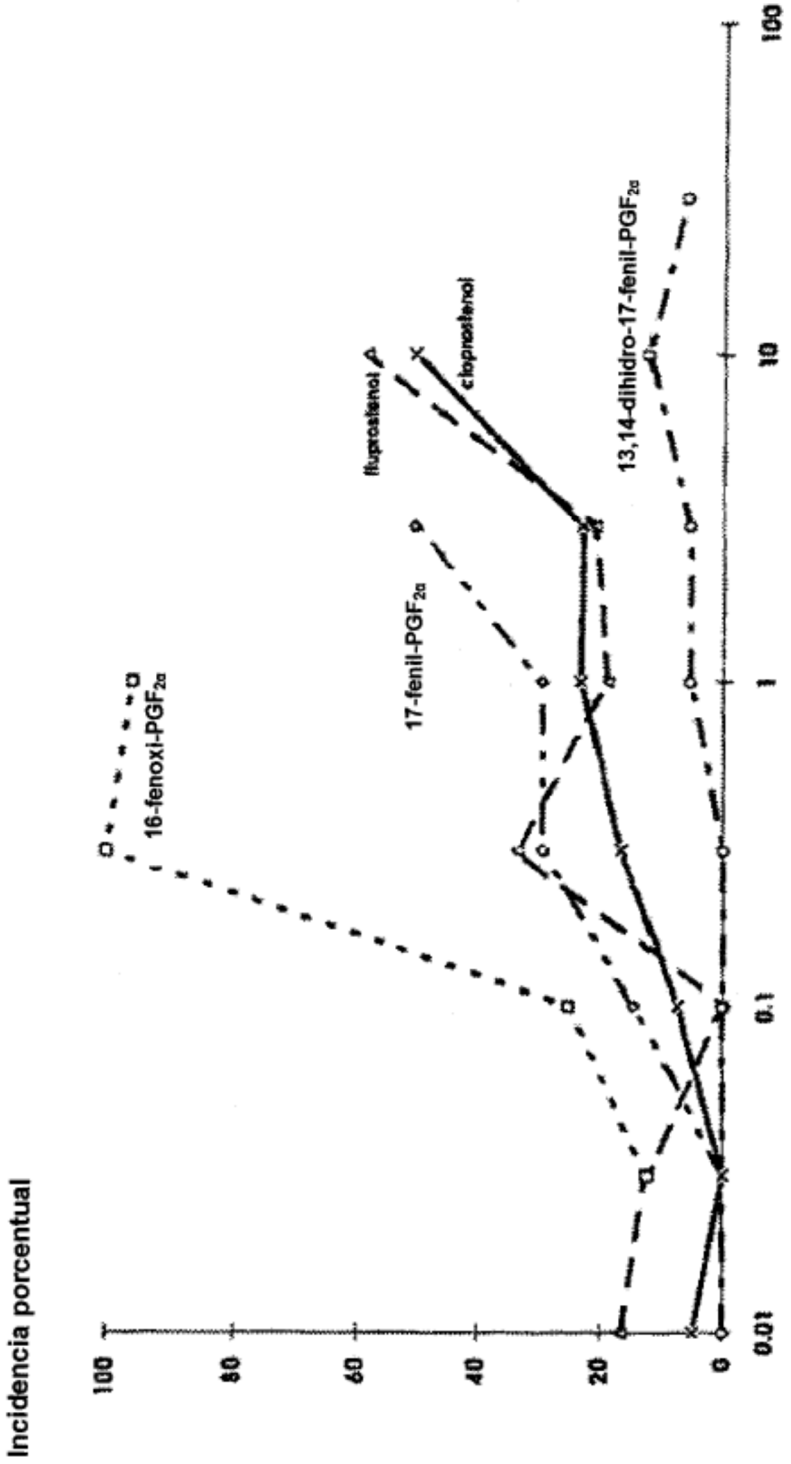


Figura 2
Presión Intraocular del mono
Dosis de prostaglandina = 0,3 µg

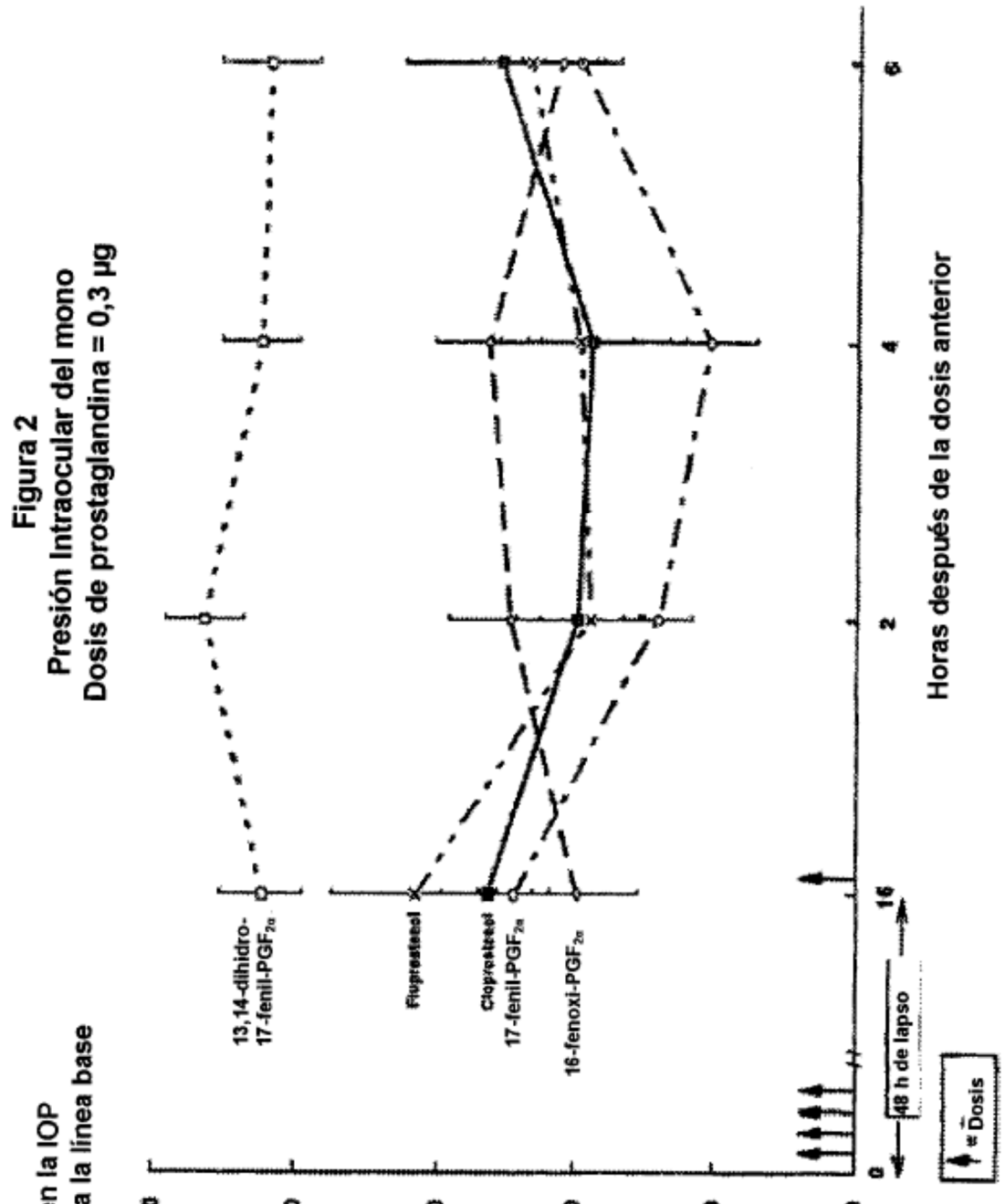
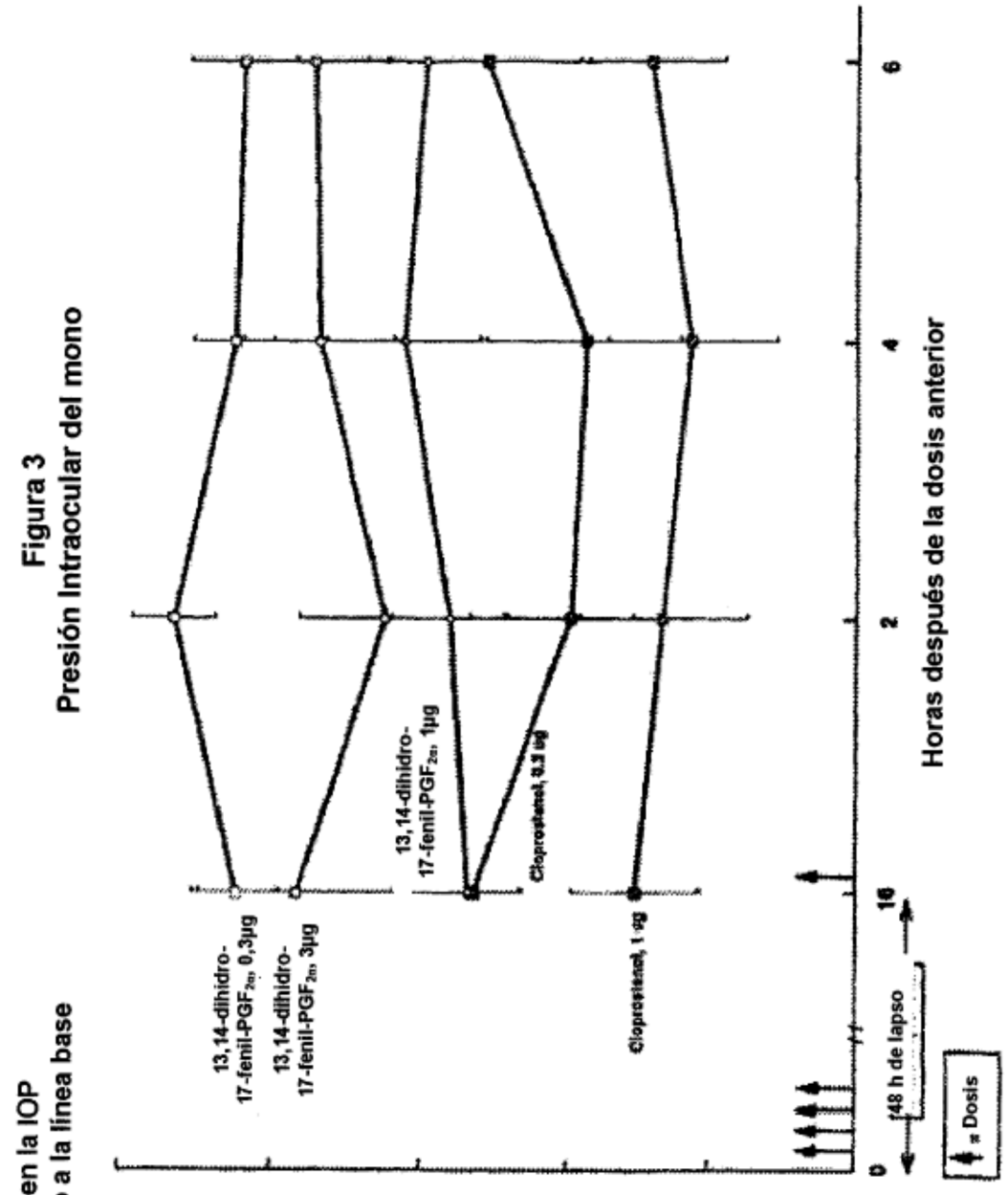



Figura 3
Presión Intraocular del mono