



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 461**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/55** (2006.01)  
**A61P 1/04** (2006.01)  
**A61K 31/4192** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08863206 .2**  
96 Fecha de presentación : **17.12.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2123277**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.11.2009**

54 Título: **Agente preventivo o terapéutico para enfermedad inflamatoria del intestino.**

30 Prioridad: **18.12.2007 JP 2007-326543**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**06.06.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**06.06.2011**

73 Titular/es: **MEIJI SEIKA KAISHA Ltd.**  
**4-16, Kyobashi 2-chome Chuo-ku**  
**Tokyo 104-8002, JP**

72 Inventor/es: **Ninomiya, Tomohisa;**  
**Shishikura, Takashi;**  
**Uchida, Mitsuhiro;**  
**Takahata, Sho;**  
**Hoshina, Yukari y**  
**Kawano, Ken-Ichi**

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 360 461 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Agente preventivo o terapéutico para enfermedad inflamatoria del intestino

5 **Referencia a solicitud relacionada**

Esta solicitud se basa en y reivindica beneficio de prioridad de la solicitud de patente japonesa anterior No. 2007-326543 (presentada el 18 de diciembre de 2007).

10 **Antecedentes de la invención**Campo de la invención

La presente invención se refiere a un agente preventivo o terapéutico para enfermedades inflamatorias del intestino tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. En particular, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica para su uso en la prevención o tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino (EII), que comprende 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, un profármaco de la misma o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde el profármaco es 2-(1-isopropoxicarbonilo-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina.

20 Antecedentes técnicos

La enfermedad inflamatoria del intestino (de aquí en adelante denominada "EII") indica enteritis no específica de tipo persistente, crónico, idiopático, es decir, enfermedades típicas que incluyen colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn (Koji Uraushibara, Mamoru Watanabe: "Concept, Definition and Epidemiology of Inflammatory Bowel Diseases"; Inflammatory Bowel Diseases, pp. 9-15, 2005, Ed. Norihumi Hibi; Saishin-Igaku (Referencia 1). La EII se considera como una enfermedad en que el mecanismo de inmunidad de la mucosa intestinal se colapsa por algunas etiologías para producir la reacción excesiva con la flora enterobacteriana y componentes bacterianos, que desarrolla y sostiene la enteritis. Sin embargo, la etiología de la enfermedad no se ha especificado. Se sabe que en la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, que son las enfermedades principales implicadas en la EII, la fase activa en la que se expresan síntomas tales como ulceración y hemorragia y la fase de remisión en la que los síntomas remiten o mejoran aparecen repetidamente, y se cree que estas enfermedades pueden volver a aparecer durante 10 a 20 años.

El mecanismo crítico de la EII aún no se ha elucidado por completo.

Aunque se propusieron teorías de alergia e infección para la explicación del mecanismo crítico en el pasado, ahora se considera la EII como una enfermedad autoinmune y han aumentado los estudios que apoyan la teoría autoinmune incluyendo, por ejemplo, que la enfermedad está acompañada con anticuerpo IgG anti-neutrófilo aumentado en sangre (Hibi N., Introduction Japanese J. Clin. Med., 63(5): 741-743, 2005 (Referencia 2); Keiichi Mitsuyama, Makoto Toyonaga y Michio Sata, "Pathology and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases"; Inflammatory Bowel Diseases, pp. 28-36, 2005, Ed. Norihumi Hibi; Saishin-Igaku (Referencia 3). Por otra parte, Ishizaka y col. han confirmado en 1966 la presencia del anticuerpo IgE que es un anticuerpo causal de alergia y demostraron que la reacción alérgica es una reacción que libera histamina mediada por el anticuerpo IgE específico de antígeno (Mechanism of Body and Allergy, 1998 Shuichi Ueno, Nippon Jitsugyo Publishing (Referencia 4); e Ishizaka K., Ishizaka T y Hornbrook MM. Physico-Chemical Properties of Human Reaginic Antibody IV: Presence of a Unique Immunoglobulin as a Carrier of Reaginic Activity. Journal of Immunology, 97 (1): 75-85, 1966 (Referencia 5)). De esta manera, la teoría de la alergia en la EII que la producción de anticuerpo IgE específico de antígeno no se había observado se volvió negativa. También se ha confirmado que el cromoglicato disódico (DSCG; Akihide Koda, "History and Present Situation of Anti-allergic Agents", pp. 32-39, 1988, Ed. Terumasa Miyamoto, Hiroshi Baba y Minoru Okuda, Life Science Co., Ltd. (Referencia 6)), que se ha aprobado comúnmente como un inhibidor típico de la liberación de histamina en tres regiones de Japón, Estados Unidos de América y Europa, es ineficaz contra la EII (Crotty B y Jewell DP. Drug therapy of ulcerative colitis. Br. J. Clin. Pharmc. 34(3): 189-198, 1992 (Referencia 7); Binder V, Elsborg L, Greibe J, Hendriksen C, Hoj L, Jensen KB, Kristensen E, Madsen JR, Marnier B, Riis P y Willumsen L. Disodium cromoglycate in the treatment of ulcerative colitis and Crohn's disease. 22 (1): 55-60, 1981 (Referencia 8); y Buckell NA, Gould SR, Day DW, Lennard-Jones JE y Edwards AM. Controlled trial of disodium cromoglycate in chronic persistent ulcerative colitis. Gut, 19 (12): 1140-1143. 1978 (Referencia 9)).

En estas circunstancias, en general se reconoce ahora que la reacción alérgica está implicada solo raramente en el mecanismo crítico de la EII tanto en estudios clínicos como básicos.

Además, se ha descrito recientemente que la enteritis inflamatoria similar a EII se desarrolla de forma espontánea en ratones deficientes en IL-2 y ratones deficientes en IL-10 (Ma A, Datta M, Margosian E, Chen K y Horak I. T cells, but not B cells, are required for bowel inflammation in interleukin-2-deficient mice, J. Exp. Med. 182 (5): 1567-1572, 1995 (Referencia 10); y Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K y Muller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. Cell, 75(2): 263-274, 1993 (Referencia 11)). La importancia de la anomalía de la reacción inmune mediada por células T en la manifestación de la enfermedad ha sido indicada por evidencias de que el defecto de IL-

2 que tiene actividad de proliferación de células T o IL-10 como una citoquina inhibidora típica produjo enteritis similar a EII. Es decir, la crisis de enteritis se previene en intestino normal mediante proliferación y activación de células T que suprimen la respuesta inmune contra sustancias reconocidas como no propias incluyendo proteínas derivadas de alimentos y cuerpos exógenos derivados de la flora bacteriana normal. Sin embargo, se considera que un cierto sistema inmune en la mucosa intestinal tónica se colapsa por alguna razón, lo que hace la respuesta inmune incontrolable a cuerpos exógenos tal como la flora intestinal hacia la que originalmente se suprime la respuesta inmune (Ohkusa T, Nomura T y Sato N., The role of bacterial infection in the pathogenesis of inflammatory bowel disease., International Medicine, 43(7): 534-539, 2004 (Referencia 12), lo que produce así el desarrollo de la EII. Se cree en general como se ha descrito anteriormente que la anomalía inmune que se centra alrededor de las células T está intensamente implicada en el mecanismo crítico de la EII (Tadao Baba, inflammatory bowel diseases, Recent Trend. Matsushita Medical Journal 39(1): 1-14, 2000 (Referencia 13)).

El objeto terapéutico de la EII consiste en la inducción de remisión (alivio de los síntomas en la fase activa) y prevenir la recaída. Mientras que las directrices terapéuticas en los países respectivos no alcanzan el consenso completo, un tratamiento curativo comúnmente recomendado en las directrices japonesas, norteamericanas y británicas es como sigue:

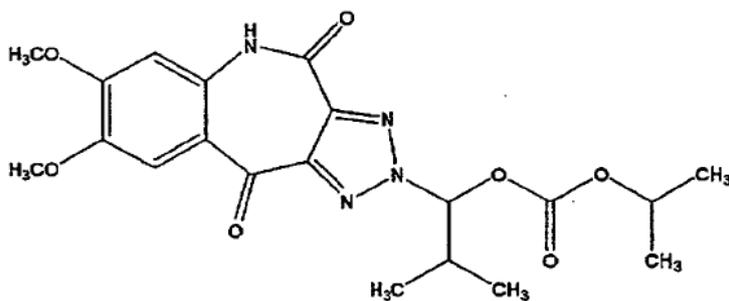
Esto es, se emplea ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) o sulfasalazina, que depende del tipo, sitio y gravedad de la enfermedad de cada paciente, como un agente terapéutico estándar en el tratamiento de pacientes leves a moderados. 5-ASA es un producto de descomposición de sulfasalazina y se cree la sustancia activa de sulfasalazina. Para pacientes moderados o graves, también se administra un esteroide para dosificación oral o rectal además de 5-ASA y sulfasalazina. En casos graves, la remisión se induce por la inyección intravenosa de esteroide o un inhibidor inmune ciclosporina. En los últimos años, también se ha llevado a cabo el tratamiento con un anticuerpo anti-TNF- $\alpha$  y similar. Se recomiendan 5-ASA y sulfasalazina para prevenir la recaída después de la inducción de la remisión. Además, se recomiendan inmunosupresores tales como azatiopurina (AZA) o 6-mercaptopurina (6-MP) para la prevención de la recaída.

Sin embargo, 5-ASA y sulfasalazina ampliamente usados para el tratamiento de EII con frecuencia muestran efectos terapéuticos insuficientes en pacientes moderados y graves. En tales casos, la remisión se induce usando un inhibidor inmune tal como esteroides o ciclosporina en pacientes graves para controlar las reacciones anormales producidas principalmente por células T, que están implicadas en la situación y gravedad de las enfermedades. La escisión quirúrgica del intestino grueso se realiza en pacientes en estado de resistencia en los que la inducción de la remisión con estos agentes es difícil. Se sabe que si el tratamiento para prevenir la recaída no se realiza después de la inducción de la remisión, es decir, después de mejorar la inflamación del aparato digestivo, la EII vuelve a aparecer o se recrudescer en el 70% de los pacientes. Por tanto, también se recomienda en las directrices mantener el estado de remisión (mantenimiento de la remisión) continuando el tratamiento profiláctico para la recaída. Mientras que se recomienda la administración de 5-ASA o sulfasalazina para el mantenimiento de la remisión (prevención de la recaída), se emplea AZA o 6-MP en el caso de que no se obtengan efectos satisfactorios con 5-ASA o sulfasalazina. Sin embargo, AZA y 6-MP requieren varios meses para el inicio del efecto, dejando así a resolver el problema de su eficacia.

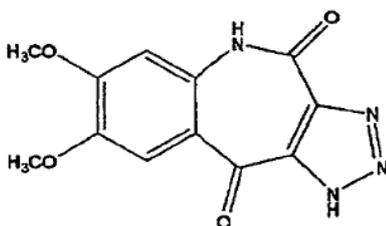
Además, los agentes terapéuticos tales como esteroides, ciclosporina, AZA o 6-MP muestran efectos secundarios sistémicos fuertes y por tanto hay una limitación en el uso de los mismos. A modo de ejemplo, además de los efectos secundarios referidos a inmunodeficiencia, los esteroides suprimen la osteogénesis o crecimiento en particular en pacientes adolescentes; las ciclosporinas producen trastornos renales; AZA y 6-MP producen síntomas similares a la gripe y efectos secundarios serios tal como inhibición de la médula ósea y hepatopatía. Además, se ha descrito teratogenicidad en experimentos con animales con esteroides, ciclosporina, AZA y 6-MP, y por tanto no se ha establecido la seguridad en el embarazo y la lactancia, lo que limita la administración a mujeres desde el final de la adolescencia a la veintena que tienen predisposición al desarrollo de EII.

En las circunstancias descritas anteriormente, ha habido en los campos terapéuticos una necesidad para desarrollar un nuevo fármaco para el tratamiento profiláctico de enfermedades inflamatorias del intestino que pueda inducir de forma segura y fuerte la remisión y usarse también en terapia de mantenimiento durante un periodo de tiempo largo.

2-(1-Isopropoxicarbonilo-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina (de aquí en adelante denominado "compuesto A") y 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina (de aquí en adelante denominado "compuesto B") tienen las estructuras representadas a continuación:



(Compuesto A)



(Compuesto B)

5

Se sabe que el compuesto A es un profármaco del compuesto B y se convierte rápidamente en el compuesto B en el cuerpo después de pasar a través de varias mucosas incluyendo las del aparato digestivo, expresando de esta manera efecto inhibitor de la liberación de histamina (véase, el documento WO 95/18130 (JP 3.290.664-B, USP 5.686.442)). También se ha revelado que el compuesto A tiene una capacidad de absorción mejorada siete veces mayor que la del compuesto B tras la administración oral (véase el documento WO 99/16770 (JP 3.188.482-B, USP 6.372.735)). El documento WO 02/44183 divulga el uso de compuestos específicos de benzoazepina para inhibir PARP.

15 Sin embargo, la bibliografía se refiere a agentes terapéuticos o profilácticos de enfermedades alérgicas y no proporciona o indica ninguna de la enfermedades inflamatorias del intestino (EII), que se cree tienen poca relación con enfermedades alérgicas, o sus métodos profilácticos o terapéuticos. De esta manera, no se encuentra necesariamente divulgación en ejemplos.

## 20 Compendio de la invención

Los presentes inventores han encontrado ahora de forma inesperada que tanto el compuesto A como el compuesto B son poderosamente eficaces en la profilaxis y terapia de enfermedades inflamatorias del intestino (EII), y en particular, muestran efectos profilácticos y terapéuticos fuertes también en casos graves que tienen resistencia a tratamientos convencionales. En tales situaciones en que la reacción alérgica está muy raramente implicada en el mecanismo crítico de la EII como se ha descrito anteriormente, el compuesto A y el compuesto B han mostrado extraordinariamente efectos profilácticos y terapéuticos que son activos hacia EII. Se ha sugerido de forma inesperada que el compuesto A y el compuesto B muestran efectos profilácticos y terapéuticos que son activos hacia EII en la base del otro mecanismo de reacción independientemente de sus actividades antialérgicas como se confirma también en los ejemplos descritos posteriormente. También se ha confirmado que cada fármaco usado en el tratamiento de EII tiene al menos una de las actividades: eficacia en un modelo de inflamación inducida por carragenina en ratas; inhibición de la producción de citoquina de leucocitos derivados del bazo. Específicamente, es un hecho bien conocido que la sulfasalazina y los esteroides son eficaces en el modelo de inflamación inducida por carragenina (Cronstein BN, Montesinos MC y Weissman G, Salicylates and sulfasalazine, but not glucocorticoid, inhibit leukocyte accumulation by an adenosine-dependent mechanism that is independent of inhibition of prostaglandin synthesis and p105 NF-KB, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 25 de Mayo, 1999, 96(11): 6377-6381 (Referencia 14)), y que los esteroides e inmunosupresores inhiben la producción de citoquinas de inmunocitos tal como células T. Por otra parte, se ha confirmado que el compuesto A o el compuesto B es ineficaz en el modelo de inflamación inducida por carragenina y no tiene actividades sobre la producción de citoquinas de células T derivadas del bazo. Esto es, se ha confirmado ahora que el mecanismo de mostrar actividades profiláctica y terapéutica eficaces sobre EII por el compuesto A y el compuesto B es diferente del de los tratamientos convencionales. Estos hechos también los han descubierto ahora los presentes inventores. Además, el compuesto A y el compuesto B tienen pocos efectos secundarios observados en el agente preventivo y terapéutico convencional y se cree que son muy útiles para la profilaxis y terapia de la EII. La presente invención se basa en estos descubrimientos.

45

De esta manera, el objeto de la presente invención es proporcionar un agente preventivo y terapéutico nuevo para enfermedades inflamatorias del intestino que sea eficaz para la prevención y tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino y que tenga pocos efectos secundarios.

5 Una composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino (EII) según la presente invención comprende 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina (compuesto B), un profármaco de la misma, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde el profármaco es 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina.

10 En una forma de realización, la composición farmacéutica para la prevención o tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino (EII) según la presente invención comprende 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina (compuesto A) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

15 Según una forma de realización preferida de la presente invención, la composición farmacéutica para prevenir o tratar enfermedades inflamatorias del intestino (EII) se administra por vía oral.

20 Según otra forma de realización preferida de la presente invención, la composición farmacéutica comprende además un soporte farmacéuticamente aceptable.

Según una forma de realización preferida de la presente invención, el término "prevención" en la composición farmacéutica para prevenir o tratar EII significa la prevención de la recaída de enfermedades inflamatorias del intestino.

25 Según una forma de realización más preferida de la presente invención, en la composición farmacéutica, la enfermedad inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

30 Las composiciones farmacéuticas según la invención se pueden usar en un método para prevenir o tratar enfermedades inflamatorias del intestino (EII) que comprende administrar una cantidad profiláctica o terapéuticamente eficaz de 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, un profármaco de la misma, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma a un mamífero, en donde el profármaco es 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina.

35 El método puede comprender administrar una cantidad profiláctica o terapéuticamente eficaz de 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma a un mamífero.

40 Además, según la presente invención, se proporciona el uso de 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, un profármaco de la misma, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la preparación de un agente preventivo o terapéutico para enfermedades inflamatorias del intestino (EII), en donde el profármaco es 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina.

45 Según otra forma de realización preferida de la presente invención, se proporciona el uso de 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la preparación de un agente preventivo o terapéutico para enfermedades inflamatorias del intestino (EII).

50 Además, en otras palabras, se puede decir que la presente invención proporciona (1) un agente preventivo o terapéutico para enfermedades inflamatorias del intestino que comprende 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma; y

55 (2) un agente preventivo o terapéutico para enfermedades inflamatorias del intestino que comprende 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Según la presente invención, se puede obtener una composición farmacéutica profiláctica o terapéutica contra enfermedades inflamatorias del intestino que tenga pocos efectos secundarios y que muestre efectos profilácticos y terapéuticos fuertes también en casos graves que tienen resistencia a tratamientos convencionales.

60 Con respecto a esto, se puede decir que la "disponibilidad industrial" en la presente invención consiste en la capacidad de proporcionar un fármaco útil que sea eficaz para la profilaxis y terapia de enfermedades inflamatorias del intestino y que tenga pocos efectos secundarios.

65 **Breve descripción de las figuras**

La figura 1 muestra los resultados experimentales de los efectos terapéuticos de los respectivos agentes en el acortamiento del intestino grueso por el procedimiento del DSS en el ejemplo de prueba 4 de los ejemplos (####: P < 0,005 frente al grupo sin procedimiento (prueba t de Student), \*\*: P < 0,01 frente al grupo tratado con solvente (prueba de comparación múltiple de Dunnett)).

La figura 2 muestra (####: P < 0,005 frente al grupo sin procedimiento (prueba t de Student), \*\*\*: P < 0,005, \*: P < 0,05 frente al grupo tratado con solvente (prueba de comparación múltiple de Dunnett)).

La figura 3 muestra los resultados experimentales de los efectos terapéuticos de los respectivos agentes en el deterioro de la puntuación fecal en el ejemplo de prueba 4 de los ejemplos (####: P < 0,005 frente al grupo sin procedimiento (prueba t de Student), \*\*\*: P < 0,005 frente al grupo tratado con solvente (prueba de comparación múltiple de Steel)).

La figura 4 muestra los resultados experimentales de los efectos terapéuticos de los respectivos agentes en el deterioro de la puntuación de macro-observación en el ejemplo de prueba 4 de los ejemplos (##: P < 0,01 frente al grupo sin procedimiento, \*\*: P < 0,01 frente al grupo tratado con solvente (prueba U de Mann-Whitney)).

### Descripción detallada de la invención

#### Principios activos

7,8-Dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina (compuesto B), que es un principio activo en la presente invención, es un compuesto bien conocido, y se puede obtener según el método descrito en la sección que se refiere al proceso para preparar el compuesto y el ejemplo 43 en el documento WO 95/18130.

El principio activo de la presente invención puede ser un profármaco del compuesto B o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto o un profármaco de la misma. Con respecto a esto, el profármaco del compuesto B es de un tipo en que el grupo 1,2,3-triazol del compuesto B se ha modificado, y se puede preparar según el proceso descrito en el documento WO 99/16770.

2-(1-Isopropoxicarbonilo-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina (compuesto A), que es un principio activo en la presente invención, es un compuesto bien conocido, y se puede obtener según el método descrito en la sección que se refiere al proceso para preparar el compuesto y el ejemplo 20 en el documento WO 95/18130.

En la presente invención, se pueden convertir el compuesto A o el compuesto B como principios activos en sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y se pueden usar tales sales como los principios activos. Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto A y el compuesto B incluyen sales no tóxicas médicamente aceptables. Tales sales no tóxicas preferiblemente incluyen sales de metales alcalinos o metales alcalinotérreos tales como sal de sodio, sal de potasio y sal de calcio; sales de ácidos halhídricos tales como sal de ácido fluorhídrico, sal de ácido clorhídrico, sal de ácido bromhídrico y sal de ácido yodhídrico; sales de ácidos inorgánicos tales como sales de ácido nítrico, sales de ácido perclórico, sales de ácido sulfúrico y sales de ácido fosfórico; sales de ácidos orgánicos tales como sal de ácido metanosulfónico, sal de ácido fumárico, sal succínica, sal cítrica, sal de ácido tartárico, sal de ácido oxálico y sal de ácido maleico; y sales de aminoácidos tales como sal de ácido glutámico y sal de ácido aspártico.

#### Composiciones farmacéuticas

Se sabe que el compuesto A y el compuesto B como los principios activos en la presente invención tienen actividades antialérgicas como se ha descrito anteriormente.

Sin embargo, se ha confirmado ahora que

(i) estos compuestos no tienen efecto inhibitor directo sobre la reacción de producir citoquinas de las células T que se cree que son las células centrales para las enfermedades inflamatorias del intestino (EII) (ejemplo de prueba 8), y  
(ii) el compuesto A es ineficaz en modelos de inflamación inducida por agentes antiinflamatorios no esteroideos (tal como indometacina), sulfasazina o carragenina con el que se puede detectar de forma sensible la eficacia de los esteroides (ejemplo de prueba 2).

Además, como se ha descrito anteriormente, el agente antialérgico típico DSCG es ineficaz en EII. Hasta ahora no hay casos que sepan los presentes inventores que la indicación para el tratamiento de EII se haya aprobado con un agente antialérgico que tenga efecto inhibitor de la liberación de histamina similar a DSCG o con un antagonista del receptor de histamina.

Estas cuestiones pueden sugerir que el compuesto A y el compuesto B tienen menos relación con el mecanismo de reacción de un agente terapéutico contra EII conocido, y que estos compuestos, incluso si tienen actividad antialérgica, tienen poco efecto antiinflamatorio no específico. También se sabe como se ha descrito anteriormente

que los efectos profilácticos y terapéuticos sobre la EII tienen menos relación con la reacción alérgica. Se puede decir que fue extremadamente difícil en tales situaciones para el experto en la materia esperar y anticipar el ejercer un efecto profiláctico o terapéutico en sí mismo. Por tanto, se cree que el efecto profiláctico o terapéutico del compuesto A y del compuesto B sobre la EII que se ha encontrado ahora en la presente invención es inesperado y la función característica en el compuesto A y el compuesto B.

Como se describirá en los ejemplos, se ha confirmado que cuando el compuesto A que es uno de los principios activos en la presente invención se administraba de forma profiláctica por vía oral a ratas modelo de EII inducida por sulfato de dextrano sódico (DSS), el área ulcerada en el recto se redujo de forma mayor que en el tratamiento con sulfasalazina que se formuló clínicamente como un agente terapéutico de rutina. El compuesto A también mostró el efecto igual o mayor que esteroide (prednisolona) sin efectos secundarios. Por otra parte, se observó efecto inhibitorio significativo de la ganancia de peso como efecto secundario en el grupo tratado con prednisolona (ejemplo de prueba 3). En otras palabras, se ha confirmado que el compuesto A tiene realmente efectos profilácticos contra la EII.

El modelo de EII es un modelo animal que corresponde a enfermedades de moderadas a graves y en el que solo la sulfasalazina mostró una tendencia ligeramente inhibitoria. Esto es bien consistente con los resultados clínicos.

Además, cuando se preparó un modelo de EII crónica inducida por DSS y se trató por vía oral con el compuesto A o el compuesto B, respectivamente, se confirmaron realmente el efecto terapéutico sobre la EII y la reacción dependiente de la dosis (ejemplo de prueba 4). Esto es, como se muestra en el ejemplo de prueba 4, las afecciones patológicas se inhibieron significativamente y de forma dependiente de la dosis en la administración del compuesto A, y se inhibió de forma significativa en la administración del compuesto B igualmente al compuesto A en la condición que el compuesto A o el compuesto B se administró en y después de tres días de la administración de DSS (ejemplo de prueba 5). Además, mientras que la inhibición de la ganancia de peso era intensa para producir el deterioro de síntomas completos en el tratamiento con ciclosporina como un inmunosupresor en la misma condición, no se obtuvieron efectos terapéuticos en el tratamiento con 5-ASA. Estos resultados sugirieron profundamente que el compuesto A y el compuesto B pueden ser tratamientos orales seguros y fuertes contra la EII.

Como los modelos patológicos de la EII, el modelo inducido por ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico (TNBS) se emplea ampliamente además del modelo inducido por DSS. Cuando se examinaron el efecto terapéutico y la reacción dependiente de la dosis del compuesto A en el modelo de EII inducida por TNBS, el compuesto A mejoró de forma dependiente de la dosis la puntuación de úlcera de colon en y después de dos días de procedimiento de TNBS (ejemplo de prueba 6). Mientras que se observó inhibición significativa ( $P < 0,01$ ) de ganancia de peso (efecto secundario) en el tratamiento con prednisolona usado como compuesto de control positivo, no se observó tal inhibición en el grupo tratado con el compuesto A.

Además, se ha confirmado que los compuestos A y B usados en la presente invención tienen gran seguridad porque no se han observado anomalías en la administración oral repetida de los compuestos durante 26 semanas consecutivas (ejemplo de prueba 7).

Por tanto, los principios activos en la presente invención ejercen efecto profiláctico o terapéutico excelente contra enfermedades inflamatorias del intestino (EII), preferiblemente mediante administración oral. De esta manera, según la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica profiláctica o terapéutica contra la EII, que comprende el compuesto B, profármacos del mismo o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, o compuesto A o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

El término "enfermedades inflamatorias del intestino" (EII) se refiere en la presente memoria a enteritis no específica de tipo persistente crónico idiopático, es decir, enfermedades típicas tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. Por tanto, el término EII excluye, según la clasificación clínica general, enteritis infecciosa, enteritis pseudomembranosa producida por antibióticos, enteritis isquémica o úlcera péptica, o enteritis implicada en reacciones alérgicas generales. De esta manera, según la forma de realización preferida de la presente invención, la enfermedad inflamatoria es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

El término "profiláctico" o "preventivo" significa en la presente memoria prevención completa o parcial de enfermedades inflamatorias del intestino o síntomas de las mismas en mamíferos, en particular en seres humanos, e incluye, por ejemplo, la prevención o inhibición de la recaída de enfermedades inflamatorias del intestino en pacientes previamente afectados y tratados.

Además, el término "terapéutico" o "tratamiento" significa en la presente memoria cura completa o parcial de enfermedades inflamatorias del intestino o síntomas de las mismas, o además tumores malignos producidos por las mismas en mamíferos, en particular en seres humanos. A modo de ejemplo, el término "terapéutico" puede incluir la inhibición de síntomas de la enfermedad, es decir, la inhibición o retraso del progreso, la mejora de los síntomas de la enfermedad, es decir, la regresión de la enfermedad o síntomas, o reversión del progreso de los síntomas.

La composición farmacéutica según la presente invención se puede administrar por vía oral o parenteral (por ejemplo por vía intravenosa, intramuscular, rectal y transdérmica) y se puede usar en una variedad de formas farmacéuticas adecuadas para la administración oral o parenteral en seres humanos y mamíferos diferentes de seres humanos.

A modo de ejemplo, la composición de la presente invención se puede preparar en cualquiera de las formas de preparación (o formulación) incluyendo agentes orales tales como comprimido, cápsula, gránulos, polvo, píldora, partículas finas, pastilla, jarabe y emulsión; inyecciones tales como inyecciones intravenosas e intramusculares; agente intrarrectal, supositorio graso, supositorio soluble en agua, pastas tal como pomada, y similares según sus aplicaciones. Estas preparaciones se pueden preparar por métodos convencionales con soportes farmacéuticamente aceptables normalmente usados tal como excipiente, relleno, aglutinante, agente humidificador, disgregante, tensioactivo, humectante, dispersante, tampón, ajustador de pH, agente de conservación, quelante, acelerador de disolución, conservante, corrector de sabor, analgésico, estabilizante, y similares. Los aditivos no tóxicos que se pueden usar incluyen, por ejemplo, lactosa, fructosa, glucosa, almidón, gelatina, carbonato de magnesio, silicato de magnesio sintético, talco, estearato de magnesio, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o sales de la misma, hidroxipropilmetilcelulosa, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, ácido poliacrílico y sales del mismo, goma arábiga, aceite de oliva, propilenglicol, polietilenglicol, jarabe, vaselina, glicerina, etanol, ácido cítrico, cloruro de sodio, sulfito de sodio, tampón fosfato, tampón citrato, tampón tartrato, tampón acetato, fosfato de sodio, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, ésteres del ácido p-hidroxibenzoico tales como p-hidroxibenzoato de metilo o p-hidroxibenzoato de etilo, y similares.

La dosificación de la composición farmacéutica según la presente invención se puede cambiar de forma apropiada en base de los principios activos contenidos en ella, y se administran cantidades profiláctica o terapéuticamente eficaces de los principios activos a pacientes para prevenir o tratar las enfermedades inflamatorias del intestino como un objeto.

Con respecto a esto, el término "cantidad profiláctica o terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad requerida para ejercer el efecto profiláctico o terapéutico en las enfermedades inflamatorias de intestino a las que se dirige en pacientes, y se puede determinar de forma individual considerando la edad, peso corporal, sexo de un paciente, enfermedades, nivel de síntomas, y similares.

Cuando se emplea el compuesto A en la presente invención, el contenido de compuesto A en la composición farmacéutica puede variar según sus formas farmacéuticas y en general está en la concentración del 1 al 70% en peso, preferiblemente del 5 al 30% en peso. Posteriormente se muestran métodos específicos para preparar la composición farmacéutica en los ejemplos de preparación. Las dosis para prevenir y tratar EII se determinan de forma apropiada considerando el uso, la edad, sexo de un paciente, nivel de síntomas y similares, y en general están en el intervalo desde alrededor de 0,1 a 2000 mg por día para adultos, preferiblemente alrededor de 10 a 1000 mg, más preferiblemente alrededor de 25 a 500 mg, que se puede administrar de una vez o en varias porciones al día.

Cuando se emplea el compuesto B, el contenido de compuesto B en la composición farmacéutica puede variar según sus formas farmacéuticas y en general está en la concentración del 1 al 70% en peso, preferiblemente del 5 al 30% en peso. Posteriormente se muestran métodos específicos para preparar la composición farmacéutica en los ejemplos de preparación. Las dosis para prevenir y tratar EII se determinan de forma apropiada considerando el uso, la edad, sexo de un paciente, nivel de síntomas y similares, y en general están en el intervalo desde alrededor de 0,1 a 2000 mg por día para adultos, preferiblemente alrededor de 10 a 1000 mg, más preferiblemente alrededor de 25 a 500 mg, que se puede administrar de una vez o en varias porciones al día.

## Ejemplos

La presente invención se ilustra además mediante los siguientes ejemplos que no se pretenden como una limitación de la invención.

### Ejemplo de prueba 1: Prueba para la conversión del compuesto A en el compuesto B

Se administró por vía oral a ratas Wistar macho de 8 semanas de edad (adquiridas de Japan SCL, Inc.) en condiciones de ayuno compuesto A marcado con  $^{14}\text{C}$  a una dosis de 1 mg/kg, y se determinaron las cantidades de compuesto B en plasma, orina y bilis mediante radio-HPLC.

Como resultado, no se detectó compuesto A en plasma 15 minutos después de la administración oral de compuesto A, pero se detectó compuesto B como el metabolito principal. Además, el compuesto A no se detectó en orina recogida 24 horas después de la administración de compuesto A, pero se detectó compuesto B como el metabolito principal. Además, no se detectó compuesto A en bilis recogida 8 horas después de la administración del compuesto A, pero se detectó compuesto B como el metabolito principal.

Se confirmó a partir de los resultados descritos anteriormente que casi todo el compuesto A se metabolizó a compuesto B cuando se absorbió el compuesto A en el cuerpo.

5 Ejemplo de prueba 2: Efectos del compuesto A e indometacina en edema inducido en garras de rata por carragenina

Se inyectó por vía subcutánea en las garras traseras derechas de ratas Wistar macho de 7 semanas de edad (adquiridas de Japan SCL, Inc.) 0,1 ml de λ-carragenina al 1% para producir reacción de edema en la garra (n = 5). Se administraron por vía oral compuesto A a dosis de 1 a 25 mg/kg e indometacina a una dosis de 5 mg/kg 15 y 60 minutos antes de la administración de carragenina, respectivamente.

Tres horas después de la administración de carragenina, cuando la reacción de edema en la garra alcanzó el máximo, se evaluó la eficacia a partir de los volúmenes de edema de la garra trasera derecha.

15 Los resultados se obtuvieron como se muestra en la tabla 1.

Se encontró de los resultados que el compuesto A a cualquier dosis no mostró efecto inhibitor, pero la indometacina mostró un efecto inhibitor significativo (p < 0,01).

20 Tabla 1

Efecto de compuesto A e indometacina en edema en garra inducido por carragenina en ratas

Grupo	Volumen de edema (ml)
Control	0,82 ± 0,03
Compuesto A, 1 mg/kg	0,87 ± 0,04
Compuesto A, 5 mg/kg	0,89 ± 0,04
Compuesto A, 25 mg/kg	0,67 ± 0,05
Indometacina, 5 mg/kg	0,48 ± 0,04**

Media ± EE \*\*: P < 0,01 frente a grupo control

25 Ejemplo de prueba 3: Evaluación de la eficacia en modelo de EII aguda en rata inducida por sulfato de dextrano sódico (DSS) al 3% (efecto profiláctico)

Un modelo de EII inducida por sulfato de dextrano sódico (DSS) al 3% es uno de los modelos de EII más útiles.

30 Se indujo la EII al permitir a ratas Wistar macho de 7 semanas de edad (adquiridas de Japan SCL, Inc.) ingerir libremente solución de DSS al 3% (n = 8). En el periodo de 7 días después de iniciar la administración de DSS, se observaron puntuaciones de heces blandas y de heces sanguinolentas según la siguiente base, y se obtuvo la suma de la puntuación de heces blandas y la puntuación de las heces sanguinolentas como la puntuación de heces del animal individual.

35 Criterios:

- Puntuación de heces blandas (de 0 a 3)  
[0: nada anormal detectado (NAD),  
1: ligeramente blandas  
2: blandas  
3: diarrea]
- Puntuación de heces sanguinolentas (de 0 a 3)  
[0: nada anormal detectado (NAD),  
1: sangre en heces,  
2: sangre roja brillante adherida en las heces,  
3: melena].

50 Se inyectó por vía intravenosa solución salina fisiológica con azul de Evans al 1% en una cantidad de 1 ml por rata 8 días después de la exposición a DSS, y el animal se sacrificó 30 minutos después de ello para la escisión del intestino grueso. Después de inmovilizar el intestino grueso en una longitud de 7 a 8 cm desde el ano con tampón de formalina al 4% durante 20 minutos, el intestino se abrió longitudinalmente desde el lado del mesenterio para fotografiar la parte rectal. Se calculó el área de úlcera mediante análisis de imagen.

55 Se preparó en suspensión compuesto A (10 mg/kg/día) o sulfasalazina (100 mg/kg/día) o prednisolona (1 mg/kg/día) como un compuesto control en un mortero de ágata, que se administró por vía oral dos veces al día a una dosis de 5 ml/kg a cada rata empezando desde un día antes de la administración de DSS hasta un día antes de la disección. Con respecto a esto, se usó una solución de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) al 1% como solvente, que se administró a una dosis de 5 ml/kg al grupo tratado con solvente.

Los resultados se obtuvieron como se muestra en las tablas 2 y 3.

Específicamente, la tabla 2 muestra los resultados de eficacia (tasa de inhibición) en puntuación de heces (media  $\pm$  error estándar) en el modelo de EII de cada grupo tratado, y la tabla 3 muestra los resultados del área de úlcera (media  $\pm$  error estándar) y su efecto de reducción (tasa de inhibición) en el modelo de EII de cada grupo tratado.

**Tabla 2**

Efecto de reducción en el área de úlcera en un modelo de EII inducida por DSS (tasa de inhibición)

	Puntuación de heces	Tasa de inhibición (%)
Grupo sin tratamiento	8,6 $\pm$ 3,6	
Grupo tratado con solvente	452,9 $\pm$ 60,9	0,0
Grupo tratado con sulfasalazina (100 mg/kg)	407,0 $\pm$ 30,9	8,2
Grupo tratado con prednisolona (1 mg/kg)	337,5 $\pm$ 34,1	26,1
Grupo tratado con compuesto A (10 mg/kg)	291,3 $\pm$ 37,0*	36,4

\*: P < 0,05 frente a grupo tratado con solvente

**Tabla 3**

Efecto de reducción en puntuación de heces en un modelo de EII inducida por DSS (tasa de inhibición)

	Puntuación de heces	Tasa de inhibición (%)
Grupo sin tratamiento	0 $\pm$ 0	
Grupo tratado con solvente	3,38 $\pm$ 0,68	0,0
Grupo tratado con sulfasalazina (100 mg/kg)	2,63 $\pm$ 0,50	22,2
Grupo tratado con prednisolona (1 mg/kg)	2,00 $\pm$ 0,42	40,7
Grupo tratado con compuesto A (10 mg/kg)	2,00 $\pm$ 0,53	40,7

**Ejemplo de prueba 4: Evaluación de la eficacia del compuesto A en el modelo crónico de EII en rata inducida por DSS (efecto terapéutico)**

Se examinó el efecto terapéutico de la administración posterior del compuesto A en el modelo inducido por DSS.

Se indujo la colitis al permitir que ratas Wistar macho de 7 semanas de edad (adquiridas de Japan SLC, Inc.) ingirieran libremente solución de DSS al 3% durante 3 días, y posteriormente se indujo la EII crónica al permitirles ingerir libremente solución de DSS al 1% empezando a partir del 4º día de la prueba.

Se administraron compuesto A (2, 20 mg/kg/día), ácido 5-aminosalicílico como control (5-ASA: 200 mg/kg/día) y ciclosporina A (Cy A: 25 mg/kg/día) a los animales empezando a partir del 4º de la prueba hasta el día de la disección (n = de 8 a 20).

Se observó la propiedad de las heces en animales individuales hasta el día anterior a la disección, y se determinaron la puntuación de heces blandas y la puntuación de heces sanguinolentas según la misma base mostrada en el ejemplo de prueba 3 para obtener la suma de la puntuación de heces blandas y puntuación de heces sanguinolentas como la puntuación de heces.

Además, se inyectó por vía intravenosa solución salina fisiológica con azul de Evans al 1% en una cantidad de 1 ml por rata el día de la disección, y el animal se sacrificó 30 minutos después de ello para la escisión del intestino grueso. Después de inmovilizar el intestino grueso en la longitud de 7 a 8 cm desde el ano con tampón de formalina al 4% durante 20 minutos, el intestino se abrió longitudinalmente desde el lado del mesenterio para fotografiar la parte rectal y medir el peso del recto. Se puntuaron el estado y grado de la parte rectal erosionada según la siguiente base para hacer una puntuación de macroobservación.

Criterios:

Puntuación de macroobservación (0-5)

[0: normal,

1: formación de erosión en intervalos estrechos,

2: formación de erosión débil, sin hemorragia,

3: formación de erosión moderada y hemorragia débil en intervalos estrechos,

4: formación de erosión fuerte y hemorragia en intervalos estrechos,

5: formación de erosión fuerte y hemorragia en intervalos amplios]

Los resultados se obtuvieron como se muestra en las figuras 1, 2, 3 y 4.

Específicamente, la figura 1 muestra los resultados de prueba del efecto terapéutico de los respectivos fármacos en el acortamiento del intestino grueso debido al tratamiento con DSS, la figura 2 muestra los resultados de la prueba

del efecto terapéutico de los respectivos fármacos en el aumento de peso del recto, la figura 3 muestra los resultados de prueba del efecto terapéuticos de los respectivos fármacos en el deterioro de la puntuación de heces el día anterior a la disección, y la figura 4 muestra los resultados de prueba del efecto terapéutico de los respectivos fármacos en el aumento de la puntuación de macroobservación, con media  $\pm$  error estándar, respectivamente.

Se ha confirmado a partir de estos resultados que se muestra un efecto de mejora significativo ( $P < 0,01$ ) en el acortamiento del intestino grueso observado en el grupo tratado con solvente por la administración de compuesto A (20 mg/kg/día) (figura 1), y que se muestra un efecto de mejora significativo ( $p < 0,005$ ,  $P < 0,05$ ) en el aumento significativo del peso del recto observado en el grupo tratado con solvente por la administración de compuesto A (2, 20 mg/kg/día) (figura 2).

Además, se ha confirmado un efecto de mejora significativo ( $P < 0,005$ ) en la puntuación de heces el día antes de la disección por la administración de compuesto A (2, 20 mg/kg/día) (figura 3).

Además, se ha reconocido en la puntuación de macroobservación como un resultado de evaluarlo con la prueba de categoría (prueba U) y la prueba de segmentación (prueba de Fisher) que se observó un efecto de mejora significativo ( $P = 0,0006$ : prueba de categoría,  $P = 0,0003$ : prueba de segmentación) en el grupo tratado con compuesto A (20 mg/kg/día), y se observó una tendencia inhibitoria ( $P = 0,0509$ : prueba de categoría,  $P = 0,1161$ : prueba de segmentación) en el grupo tratado con 2 mg/kg (figura 4).

Se ha confirmado a partir de los resultados descritos anteriormente que el compuesto A tiene un efecto terapéutico dependiente de la dosis en el modelo de EII crónica. Por otra parte, no se reconocieron efectos inhibitorios significativos en ningún punto de evaluación para un inmunosupresor Cy A y un agente antiinflamatorio 5-ASA.

#### Ejemplo de prueba 5: Evaluación de la eficacia del compuesto B en modelo crónico de EII en rata inducida por DSS (juicio del efecto terapéutico)

Se examinó un efecto terapéutico del compuesto B administrado por vía oral de la misma manera que en el ejemplo de prueba 4 excepto que se usó el compuesto B (20 mg/kg/día) en lugar del compuesto A ( $n = 12$ ).

Como resultado, mientras que la puntuación de heces el día anterior a la disección aumentó significativamente ( $P < 0,01$ ) a  $1,9 \pm 0,25$  en el grupo tratado con solvente, en el grupo tratado con compuesto B se reconoció inhibición significativa ( $P < 0,05$ ) a  $0,9 \pm 0,24$  y también se reconoció un efecto inhibitorio en la puntuación de macroobservación.

#### Ejemplo de prueba 6: Evaluación de la eficacia en un modelo de EII en rata inducida por ácido trinitrobenzenosulfónico (TNBS) (efecto terapéutico)

Un modelo inducido por TNBS como un modelo animal de EII se usa ampliamente como modelo de la enfermedad de Crohn. De esta manera, se emplearon ratas del modelo inducido por TNBS para examinar el efecto terapéutico del compuesto A.

Se trataron por vía intrarrectal ratas SD macho de 8 semanas de edad (adquiridas de Charles River Laboratories Japón, Inc.) con TNBS para inducir enteritis, y se dividieron en grupos 2 días después del tratamiento con TNBS para iniciar la administración de los fármacos. Se administraron por vía oral un solvente, compuesto A (2, 20, 50 mg/kg/día) o prednisolona (6 mg/kg/día) dos veces al día, y las ratas se sometieron a autopsia 8 días después de la administración para determinar la puntuación de macroobservación. La evaluación de la puntuación se realizó por el método descrito en la tabla 4 según el método del juicio por JOHN L. WALLACE et al. (Gastroenterology, 1989; 96: 29-36).

Además, se cortó el intestino grueso a una longitud de 10 cm para determinar el peso húmedo del intestino. Los resultados de la evaluación de puntuación se muestran en la tabla 5 y los resultados de la determinación del peso húmedo se muestran en la tabla 6.

A partir de estos resultados, se reconocieron un aumento significativo en la puntuación de macroobservación y un aumento en el peso húmedo del intestino grueso en el grupo tratado con solvente. Por el contrario, se observaron una mejora de la puntuación significativa ( $P < 0,05$ ) y tendencia a mejorar el peso húmedo del intestino grueso en el grupo tratado con compuesto A (50 mg/kg). Además, en los grupos de dosis bajas (2, 10 mg/kg), se observó la tendencia a mejorar la puntuación. Por otra parte, se observó una inhibición notable de ganancia de peso ( $P < 0,01$ ) en el grupo tratado con prednisolona como control positivo. Con respecto a esto, la inhibición significativa de ganancia de peso no se observó en el grupo tratado con compuesto A.

#### Tabla 4

Puntuación	Criterio
0	Sin congestión tópica, sin hemorragia, sin úlcera
1	Congestión tópica, hemorragia, sin úlcera
2	Úlcera que implica congestión o hipertrofia de la pared intestinal
3	Úlcera que implica inflamación (una)
4	Úlceras en dos o más sitios, inflamación o úlcera geográfica (amplitud de úlcera: menos de 1 cm)
5	Úlceras en dos o más sitios, inflamación o úlcera geográfica (amplitud de úlcera: 1 cm o más)
6	Para el intestino, añádase 1 punto por 1 cm de úlcera que exceda 2 cm longitudinalmente
~	Añádase 1 punto por 1 cm de úlcera horizontalmente

**Tabla 5**

Efecto sobre la puntuación de ulceración de colon en modelo de EII inducida por TNBS

Grupo	Dosis	No. de casos	Puntuación de ulceración de colon
Grupo sin tratamiento	-	6	0,0 ± 0,0
Grupo tratado con solvente	-	11	4,5 ± 0,3 <sup>###</sup>
Grupo tratado con compuesto A	1 mg/kg x 2	10	3,5 ± 0,4
Grupo tratado con compuesto A	5 mg/kg x 2	10	3,5 ± 0,5
Grupo tratado con compuesto A	25 mg/kg x 2	11	3,3 ± 0,3 <sup>*</sup>
Grupo tratado con prednisolona	3 mg/kg x 2	9	3,0 ± 0,5 <sup>b</sup>

- 5 **##:** P < 0,01; grupo sin tratamiento frente a grupo tratado con solvente por la prueba de Mann-Whitney  
**\*:** P < 0,05; grupo tratado con solvente frente a grupo tratado con compuesto A por la prueba de Steel  
**b:** P < 0,05; grupo tratado con solvente frente a grupo tratado con prednisolona por la prueba de Mann-Whitney

10 **Tabla 6**

Efecto sobre el peso húmedo del colon del intestino grueso en modelo de EII inducida por TNBS

Grupo	Dosis	No. de casos	Puntuación de ulceración de colon
Grupo sin tratamiento	-	6	0,70 ± 0,03
Grupo tratado con solvente	-	11	1,42 ± 0,09 <sup>###</sup>
Grupo tratado con compuesto A	1 mg/kg x 2	10	1,31 ± 0,08
Grupo tratado con compuesto A	5 mg/kg x 2	10	1,27 ± 0,08
Grupo tratado con compuesto A	25 mg/kg x 2	11	1,20 ± 0,04
Grupo tratado con prednisolona	3 mg/kg x 2	9	1,05 ± 0,09 <sup>bb</sup>

- 15 **##:** P < 0,01; grupo sin tratamiento frente a grupo tratado con solvente por la prueba de Mann-Whitney  
**bb:** P < 0,01; grupo tratado con solvente frente a grupo tratado con prednisolona por la prueba de Steel

15 **Ejemplo de prueba 7: Estudio de administración oral repetida veintiséis semanas del compuesto A en ratas (prueba de seguridad)**

20 A ratas SD machos y hembras de 6 semanas de edad (adquiridas de Charles River Laboratories Japón, Inc.) se les administró un solvente (hidroximetilcelulosa) o compuesto A (100, 300, 1000 mg/kg/día) por vía oral y de forma repetida durante 26 semanas consecutivas (n = 15).

25 Como resultado, no se observaron anomalías en el estado general, cambio de peso, consumo de alimentos e histopatología en ninguno de los grupos de dosis.

Se ha juzgado a partir de estos resultados que el nivel de efecto adverso no observado (NOAEL, por sus siglas en inglés) del compuesto A es 1000 mg/kg/día o más.

30 **Ejemplo de prueba 8: Estudio del efecto directo sobre la activación de células T con compuesto B**

35 Se sensibilizaron ratones Balb/c machos de 7 semanas de edad (adquiridos de Japan SLC, Inc.) con una suspensión de gel de hidróxido de aluminio-ovoalbúmina administrada por vía intraperitoneal o subcutánea en ambas regiones inguinales el primer y el 14º días, y se cortó el bazo el 21º día para preparar una suspensión de esplenocitos. Después de eliminar los eritrocitos, se añadieron compuesto B (10 µM) y ovoalbúmina a los esplenocitos resuspendidos en un medio de cultivo y la mezcla se cultivó a 37°C en la condición de CO<sub>2</sub> al 5%.

40 Se determinaron de forma cuantitativa IL-4 en el sobrenadante después de cultivar durante 6 horas, e IL-2, IL-5 e IFNγ en el sobrenadante después de cultivar durante 24 horas mediante ELISA (kit de ELISA fabricado por ENDOGEN).

Como resultado, mientras que IL-4, IL-2, IL-5 e IFN $\gamma$  aumentaron en el grupo control, el compuesto B no inhibió la producción de estas citoquinas. En este punto la prednisolona casi inhibió por completo IL-2, IL-5 e IFN $\gamma$ , pero no IL-4.

5 Se cree a partir de los resultados descritos anteriormente que una composición farmacéutica que comprende compuesto A y compuesto B como principios activos es realmente más potente que sulfasalazina o 5-ASA contra la EII, y tiene una eficacia fuerte igual a o más que prednisolona. Además, se cree que un fármaco oral que comprende el compuesto A y el compuesto B como los principios activos no solo tiene efectos profilácticos sino que también se puede esperar que tenga efectos terapéuticos. También se cree que puesto que la ganancia de peso se inhibe visiblemente en el grupo tratado con prednisolona y el grupo tratado con ciclosporina y no se observaron efectos secundarios tales como inhibición de la ganancia de peso en los grupos tratados con compuesto A y compuesto B, el fármaco oral que comprende compuesto A y compuesto B como principios activos tiene gran seguridad.

15 Ejemplos de fabricación de fármacos: Formulación ejemplo de una composición profiláctica o terapéutica contra enfermedades inflamatorias del intestino

A continuación se muestran ejemplos de preparación de composiciones farmacéuticas para prevenir o tratar enfermedades inflamatorias del intestino según la presente invención y formulación para preparar las composiciones.

20 Ejemplo de preparación 1: Comprimidos

Tabla 7

Compuesto A	2,5 g
Hidromelosa	0,5 g
Lactosa	11,5 g
HPC lactosa al 6%	8 g
Fécula de patata	2 g
Estearato de magnesio	0,5 g
Total	25 g

25 Ejemplo de preparación 2: Cápsulas

Tabla 8

Compuesto A	2,5 g
Hidromelosa	0,5 g
Lactosa	17,5 g
Fécula de patata	4 g
Estearato de magnesio	0,5 g
Total	25 g

30 Ejemplo de preparación 3: Enema

Tabla 9

Compuesto B	1,0 mg/ml
Tris (hidroximetil)aminometano	1,2 mg/ml
Carboximetilcelulosa sódica	15 mg/ml
Ácido clorhídrico	q.v.
pH	7,0

35

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición farmacéutica para su uso en la prevención o tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino (EII), que comprende 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, un profármaco de la misma, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde el profármaco es 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina.
- 10 2. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, que comprende 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma como un profármaco.
3. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, que se administra por vía oral.
- 15 4. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además un soporte farmacéuticamente aceptable.
5. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la prevención significa la prevención de la recaída de enfermedades inflamatorias del intestino.
- 20 6. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la enfermedad inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.
- 25 7. Uso de 7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-1H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina, un profármaco de la misma, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la preparación de un agente preventivo o terapéutico para enfermedades inflamatorias del intestino (EII), en donde el profármaco es 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina.
- 30 8. Uso según la reivindicación 7, en donde el compuesto es 2-(1-isopropoxicarboniloxi-2-metilpropil)-7,8-dimetoxi-4(5H),10-dioxo-2H-1,2,3-triazolo[4,5-c][1]benzoazepina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
9. Uso según las reivindicaciones 7 u 8, en donde el agente preventivo o terapéutico es uno para la administración oral.
- 35 10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde el agente preventivo o terapéutico comprende además un soporte farmacéuticamente aceptable.
11. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde la prevención significa la prevención de la recaída de enfermedades inflamatorias del intestino.
- 40 12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en donde la enfermedad inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

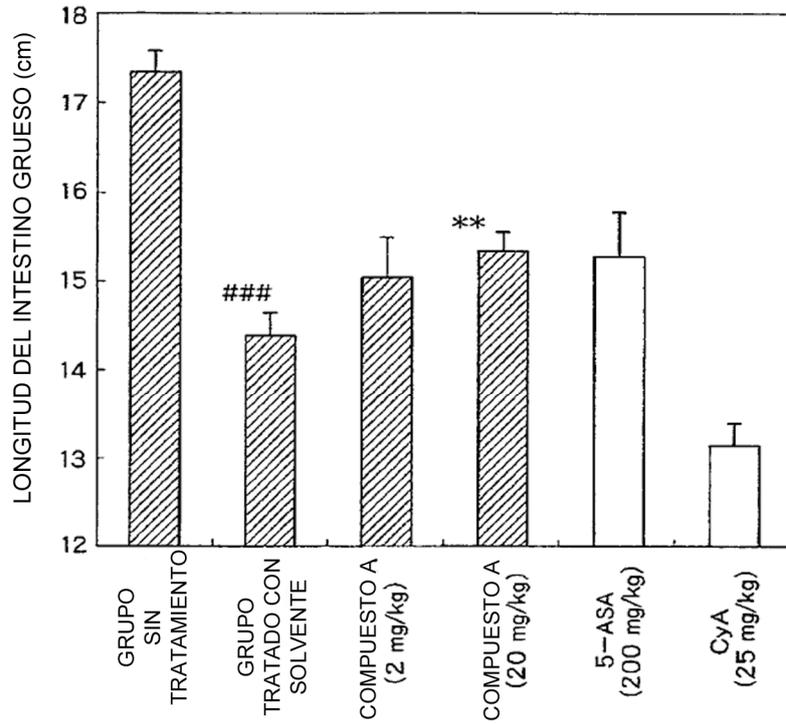


FIG. 1

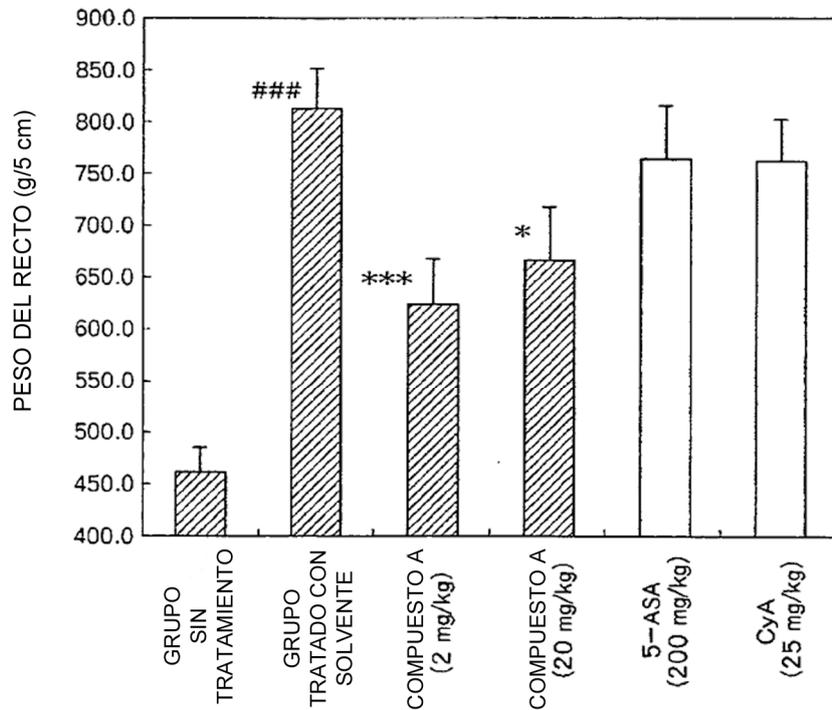


FIG. 2

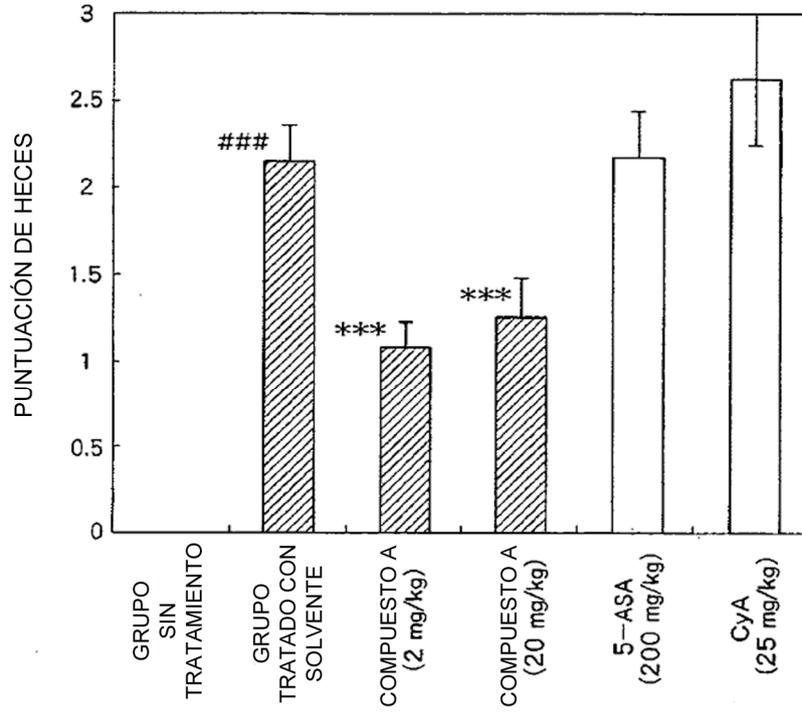


FIG. 3

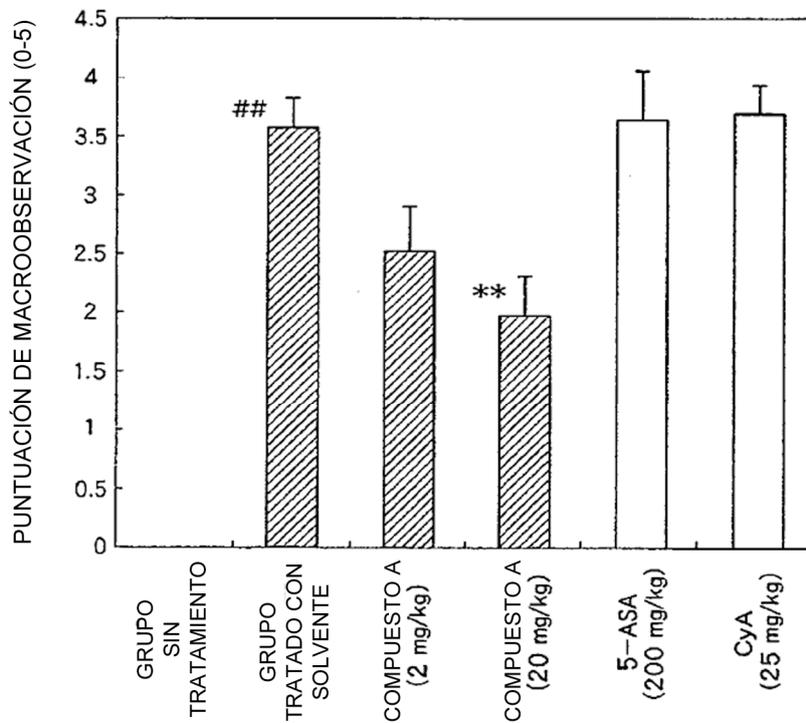


FIG. 4