



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 360 604**

51 Int. Cl.:

C07C 405/00 (2006.01) **C07D 207/24** (2006.01)

C07D 207/27 (2006.01) **C07D 263/24** (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01) **A61K 31/559** (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01) **A61P 19/08** (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02747707 .4**

96 Fecha de presentación : **22.07.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1417975**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.05.2004**

54

Título: **Remedios para enfermedades con pérdida de masa ósea que tienen como ingrediente activo agonistas de EP₄.**

30

Prioridad: **23.07.2001 JP 2001-222148**
07.08.2001 JP 2001-239895
01.03.2002 JP 2002-56449

73

Titular/es: **ONO PHARMACEUTICAL Co., Ltd.**
1-5, Doshomachi 2-chome
Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 541-8526, JP

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.06.2011

72

Inventor/es: **Maruyama, Toru;**
Kobayashi, Kaoru;
Kambe, Tohru;
Maruyama, Takayuki;
Yoshida, Hideyuki;
Nishiura, Akio y
Abe, Nobutaka

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.06.2011

74

Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 360 604 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).

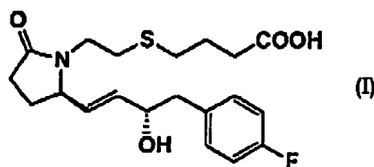
DESCRIPCIÓN

Remedios para enfermedades con pérdida de masa ósea que tienen como ingrediente activo agonistas de ep4

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere

(1) al ácido (15 α ,13E)-9-oxo-15-hidroxi-16-(4-fluorofenil)-17,18,19,20-tetranor-5-tia-8-azaprost-13-enoico representado por la siguiente fórmula (I):



10

o una sal no tóxica del mismo, o un clatrato de ciclodextrina del mismo;

(2) a una composición farmacéutica que comprende el mismo; y

(3) al uso del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de reumatismo articular crónico.

15

Antecedentes de la invención

20

La prostaglandina E2 (abreviada como PGE2) se conoce como un metabolito de la cascada del araquidonato. Se sabe que la PGE2 posee actividad cito-protectora, actividad contráctil del útero, efecto inductor del dolor, un efecto promotor del peristaltismo digestivo, un efecto excitante, un efecto supresor de la secreción de ácido gástrico, una actividad hipotensiva y una actividad diurética etc.

25

En un estudio reciente, se ha demostrado la existencia de diversos receptores del subtipo PGE2 que poseen diferentes funciones físicas entre sí. En la actualidad, se conocen cuatro subtipos de receptores y se denominan EP1, EP2, EP3, EP4 (Negishi M. y col., J. Lipid Mediators Cell Signaling, 12, 379-391 (1995)).

30

Se piensa que el receptor del subtipo EP₄ se relaciona con la inhibición de la producción de TNF- α y la aceleración de la producción de IL-10. Por lo tanto, se espera que los compuestos que pueden unirse al receptor del subtipo EP₄ sean útiles para la prevención y/o tratamiento de enfermedades inmunológicas (enfermedades autoinmunes tales como esclerosis amiotrófica lateral (ALS), esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren, reumatosis crónica y lupus eritematoso sistémico, etc., y el rechazo después de trasplante de órganos, etc.), asma, muerte celular neuronal, artritis, insuficiencia pulmonar, fibrosis pulmonar, enfisema pulmonar, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, lesión hepática, hepatitis aguda, nefritis (nefritis aguda, nefritis crónica), insuficiencia renal, hipertensión, isquemia miocárdica, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, septicemia, síndrome hemofagocítico, síndrome de activación de macrófagos, enfermedad de Still, enfermedad de Kawasaki, quemadura, granulomatosis sistémica, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, hipercitoquinemia en la diálisis, disfunción multiorgánica y choque, etc.

35

40

También se piensa que el receptor del subtipo EP₄ se relaciona con la protección de la mucosa. Por lo tanto, se espera que los compuestos que pueden unirse al receptor del subtipo EP₄ sean útiles para prevención y/o tratamiento de úlceras del tracto gastrointestinal, tales como úlcera gástrica y úlcera duodenal etc. y estomatitis. También se piensa que el receptor del subtipo EP₄ se relaciona con la función del crecimiento del pelo. Por lo tanto, se espera que los compuestos que pueden unirse al receptor del subtipo EP₄ sean útiles para la prevención y/o tratamiento de problemas relacionados con el pelo y alopecia. Adicionalmente, también se piensa que el receptor del subtipo EP₄ se relaciona con la maduración del cuello uterino. Por lo tanto, se espera que los compuestos que pueden unirse a los receptores del subtipo EP₄ sean útiles para promover la maduración del cuello uterino.

45

50

Adicionalmente, los compuestos que pueden unirse al receptor del subtipo EP₄ también tienen una acción de aceleración de la formación de hueso, de manera que se espera que sean útiles para la prevención y/o tratamiento de enfermedades asociadas con la disminución de la masa ósea, por ejemplo,

1) osteoporosis primaria (por ejemplo, osteoporosis primaria después de envejecimiento, osteoporosis primaria posmenopáusicas, osteoporosis primaria después de ovariectomía, etc.),

55

2) osteoporosis secundaria (por ejemplo, osteoporosis inducida por glucocorticoides, osteoporosis inducida por hipertiroidismo, osteoporosis inducida por inmovilización, osteoporosis inducida por heparina, osteoporosis inducida por inmunosupresión, osteoporosis debida a fallo renal, osteoporosis inflamatoria, osteoporosis después de síndrome Cushing, osteoporosis reumatoide, etc.),

3) enfermedades óseas tales como metástasis de cáncer de hueso, hipercalcemia, enfermedad de Paget, pérdida ósea (pérdida ósea alveolar, pérdida ósea mandibular, pérdida ósea idiopática juvenil, etc.), osteonecrosis, etc.

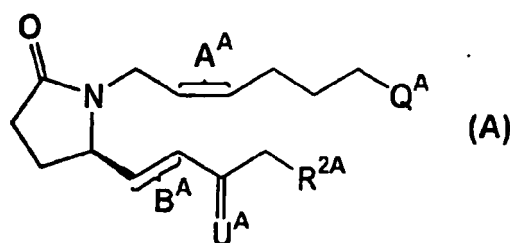
60

Junto con el tratamiento de las enfermedades anteriores, la presente invención también incluye una composición farmacéutica para acelerar la formación de hueso después de cirugía de hueso (por ejemplo formación de hueso después de fracturas, formación de hueso después de injerto de hueso, formación de hueso después de cirugía de articulación artificial, formación de hueso después de fusión espinal y formación de hueso después de otra cirugía para la regeneración de hueso etc.), o promover el tratamiento de las mismas o tratamiento alternativo para injerto de hueso.

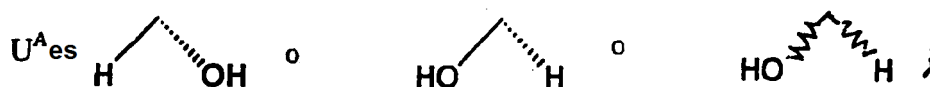
También se piensa que el receptor del subtipo EP₄ se relaciona con la inducción del sueño fisiológico y supresión de la agregación de las plaquetas de la sangre, de manera que se espera que dichos compuestos sean útiles para la prevención y/o tratamiento de trastornos del sueño y trombosis.

El compuesto que puede unirse selectivamente a un receptor de EP₄ no tiene efecto inductor del dolor que puede causar la EP₁, relajación uterina que puede causar la EP₂ y contracción uterina que puede causar la EP₃, de manera que se piensa que son agentes que no tienen efecto sobre las acciones anteriores.

En la memoria descriptiva de la patente de Estados Unidos N° 4.177.346, se describe que el compuesto de fórmula (A)



(en la que Q^A se selecciona entre el grupo que consiste en -COOR^{3A}, tetrazol-5-ilo y -CONHR^{4A};
A^A es un enlace sencillo o un doble enlace *cis*;
B^A es un enlace sencillo o un doble enlace *trans*;



R^{2A} se selecciona entre el grupo que consiste en α -tienilo, fenilo, fenoxi, fenilo monosustituido y fenoxi monosustituido y el sustituyente se selecciona entre el grupo que consiste en cloro, fluoro, fenilo, metoxi, trifluorometilo y alquilo C₁₋₃;

R^{3A} se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₅, fenilo y p-bifenilo;

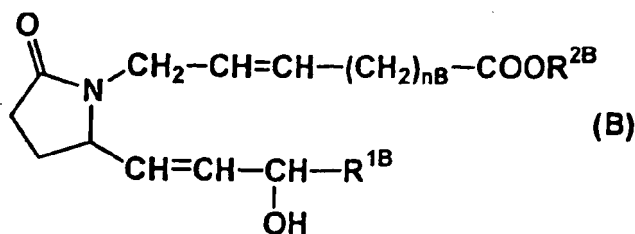
R^{4A} se selecciona entre el grupo que consiste en -COR^{5A} y -SO₂R^{5A};

R^{5A} se selecciona entre el grupo que consiste en fenilo y alquilo C₁₋₅;

y un epímero C5 del mismo, la sal de metal alcalino y metales alcalinotérreos y sal de amonio del que tiene carboxilato o tetrazol-5-ilo.

Y en la memoria descriptiva del documento WO-A-2001/46140, se describe que el antagonista del receptor de EP₄ de fórmula (A) es útil para el tratamiento de osteoporosis.

Y en la memoria descriptiva de la patente de Reino Unido N° 1.553.595, los derivados de pirrolidona de fórmula (B)



(donde R^{1B} es un radical hidrocarburo alifático saturado o insaturado de cadena lineal o ramificada que tiene hasta 10 átomos de carbono, o un radical hidrocarburo cicloalifático que tiene de 3 a 7 átomos de carbono, radicales que

pueden estar sustituidos o sin sustituir con uno o más de los siguientes:

e) un grupo cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono,

f) un grupo fenilo, tienilo o furilo que puede portar uno o más sustituyentes seleccionados opcionalmente entre grupo alquilo halogenado de 1 a 3 átomos de carbono, átomos de halógeno y grupo alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono,

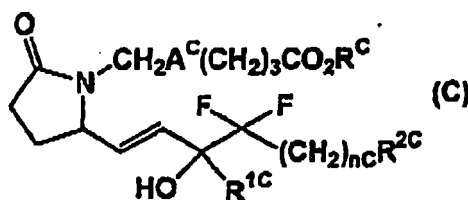
R^{2B} es un radical hidrocarburo alifático saturado o insaturado de cadena lineal o ramificada que tiene hasta 6 átomos de carbono o un radical hidrocarburo aralifático que tiene 7 u 8 átomos de carbono, y

nB es el número entero 2,3 ó 4, las definiciones de los símbolos son conocidas),

y un ácido correspondiente, una sal, especialmente la fisiológicamente aceptable, por ejemplo, metal o amina, una sal de la misma se describe.

En las memorias descriptivas de la Patente de Reino Unido N° 1.569.982 y la Patente de Reino Unido N° 1.583.163, se describe el compuesto cercano al compuesto de fórmula (B).

En la memoria descriptiva de la Patente de Estados Unidos N° 4.320.136, se describe el compuesto de fórmula (C)



(en la que A^C es $CH=CH$ (cis o trans), $C=C$ o CH_2CH_2 ;

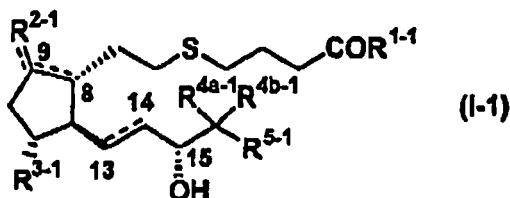
R^C es H. n-alquilo C1-C12, alquilo o cicloalquilo ramificado etc.;

R^{1C} es H. CH_3 o C_2H_5 ;

R^{2C} es fenilo o fenilo mono o di- sustituido, el sustituyente se selecciona entre el grupo que consiste en F, Cl, CH_3 , OCH_3 , NO_2 o CF_3 ;

cuando R^{2C} es fenilo o fenilo sustituido, nC es 0-2, las definiciones de los símbolos son conocidas).

En la memoria descriptiva del documento WO00/03980, se describe que el compuesto de fórmula (I-1)



en la que R^{1-1} es hidroxilo, alquiloxi C1-6 o $NR^{6-1}R^{7-1}$, donde cada R^{6-1} y R^{7-1} son independientemente, átomo de hidrógeno o alquilo C1-4,

R^{2-1} es oxo, halógeno o $O-CO^{8-1}$, donde R^{8-1} es alquilo C1-4, fenilo o fenil(alquil C1-4),

R^{3-1} es átomo de hidrógeno o hidroxilo,

cada R^{4a-1} y R^{4b-1} son independientemente, átomo de hidrógeno o alquilo C1-4,

R^{5-1} es fenilo sustituido con el grupo que se indica a continuación:

(i) 1 a 3 de

alquiloxi C1-4-alquilo C1-4,

alquenoiloxi C2-4-alquilo C1-4,

alquinoiloxi C2-4-alquilo C1-4,

cicloalquiloiloxi C3-7-alquilo C1-4,

cicloalquil C3-7(alquiloiloxi C1-4)-alquilo C1-4, feniloiloxi-alquilo C1-4,

fenil-alquiloiloxi C1-4-alquilo C1-4,

alquiltio C1-4 -alquilo C1-4,

alquenoiltio C2-4-alquilo C1 -4,

alquinoiltio C2-4-alquilo C1-4,

cicloalquiltio C3-7-alquilo C1-4,

cicloalquil C3-7(alquiltio C1-4)alquilo C1-4 o

feniltio-C1 -4 alquilo o fenil-C1 -4 alquiltio-C1 -4 alquilo,

(ii) alquiloiloxi C1-4-alquilo C1-4 y alquilo C1-4,

alquiloxi C1-4-alquilo C1-4 y alquiloxi C1-4,
 alquiloxi C1-4-alquilo C1-4 e hidroxilo,
 alquiloxi C1-4-alquilo C1-4 y halógeno,
 alquiltio C1-4-alquilo C1-4 y alquilo C1-4,
 alquiltio C1-4-alquilo C1-4 y alquiloxi C1-4,
 alquiltio C1-4-alquilo C1-4 e hidroxilo o
 alquiltio C1-4-alquilo C1-4 y halógeno,
 (iii) haloalquilo o hidroxilo-alquilo C1-4, o
 (iv) alquilo C1-4 e hidroxilo;

es un enlace sencillo o un enlace doble,

en la que cuando R^{2-1} es O-COR⁸⁻¹, la posición C8-9 es un doble enlace, o una sal no tóxica de los mismos, o un clatrato de ciclodextrina de los mismos como un ingrediente activo, es útil como agente de unión del receptor de EP₄.

En la memoria descriptiva del documento WO 01/37877, se describe que el antagonista del receptor de EP₄ de fórmula (I-1) es útil para el tratamiento de enfermedades asociadas con la disminución de la masa ósea.

Este documento describe que el agonista del receptor de EP₄ de fórmula (A) y (I-1) es útil para el tratamiento de enfermedades asociadas con huesos, existe una descripción general sobre la administración tópica. Por lo tanto no se demuestra experimentalmente que la administración tópica del antagonista del receptor de EP₄ sea útil para el tratamiento de enfermedades asociadas con huesos.

Existen cuatro receptores del subtipo PGE₂ que poseen diferentes funciones físicas entre sí y cada subtipo se denomina EP₁, EP₂, EP₃ y EP₄ y tiene una acción farmacológica diferente. De manera que los compuestos que pueden unirse selectivamente al receptor de subtipo EP₄ y unirse débilmente a los otros receptores subtipos puede ser el fármaco con menor efecto secundario debido a que no muestran otras actividades. Por lo tanto existe una necesidad de investigar el fármaco de este tipo.

Por otro lado, hasta ahora se han encontrado muchos compuestos que tienen la actividad antagónica de EP₄. Sin embargo todos ellos tienen un armazón prostanoide, de manera que se piensa que influyen en el sistema circulatorio (por ejemplo disminuyendo la presión arterial o aumentando la frecuencia cardiaca), o producen efectos secundarios tales como diarrea cuando se administran por administración sistémica tal como administración oral o infusión intravenosa. Por lo tanto, tienen un problema significativo de que existe una limitación de la dosis para poder administrarse de manera segura.

Al igual que una enfermedad se asocia con el antagonista de EP₄, se han realizado numerosos estudios de enfermedades asociadas con la disminución de la masa ósea. También se piensa que la administración sistémica produce efectos secundarios, de manera que se espera el desarrollo del fármaco con menos efectos secundarios. También se espera descubrir una composición farmacéutica de acción prolongada que pueda administrarse por vía tópica.

Descripción de la invención

Los autores de la presente invención han estudiado para encontrar los compuestos que pueden unirse específicamente al receptor del subtipo EP₄ y que tengan una fuerte actividad antagónica. Finalmente, se descubrió que el compuesto de fórmula (I) cumplía este objetivo y esta invención se consiguió.

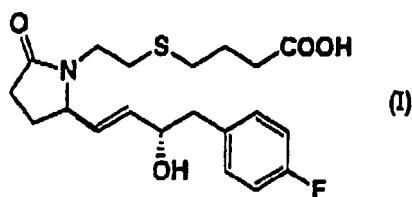
Los autores de la presente invención también pensaron que podían crear el agente terapéutico (tratamiento de enfermedades asociadas con la disminución de la masa ósea, particularmente) sin efectos secundarios en administración sistémica si el agonista de EP₄ pudiera administrarse tópicamente. También concibieron que podían crear el agente terapéutico (tratamiento de enfermedades asociadas con la disminución de la masa ósea, particularmente) sin efectos secundarios en administración sistémica y con menos frecuencia de administración si pudiesen descubrir el agonista de EP₄ que pudiese ser de formulación de liberación prolongada y que pudiese administrarse por vía tópica.

Por lo tanto, los autores de la presente invención realizaron adicionalmente investigaciones para resolver el objetivo anterior para encontrar que el objetivo de la presente invención puede conseguirse usando una formulación de liberación prolongada del compuesto de fórmula (I) y completar la presente invención.

El compuesto de fórmula (I) es completamente nuevo.

La presente invención se refiere a





i) ácido (15 α , 13E)-9-oxo-15-hidroxi-16g(4-fluorofenil)17,18,19,20-tetrano-5-tia-8-azaprost-13-enoico representado por la siguiente fórmula (I):



o una sal no tóxica del mismo, o un clatrato de ciclodextrina del mismos.;

ii) una composición farmacéutica que comprende el mismo y

5 iii) uso del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de reumatismo articular crónico.

En la presente invención, a menos que se indique otra cosa, el símbolo  significa que el sustituyente unido al mismo está detrás de la hoja (es decir, configuración α), el símbolo  significa el sustituyente unido al mismo está delante de la hoja (es decir, configuración β), el símbolo  significa configuración α , configuración β o una mezcla de configuración α y configuración β , y el símbolo  significa que hay una mezcla de configuración α y configuración β como sería evidente para el experto en la materia.

15 El compuesto de la presente invención puede convertirse en la sal no tóxica correspondiente por métodos convencionales.

Las sales no tóxicas de los compuestos de la presente invención incluyen todas las sales farmacéuticamente aceptables y se prefieren sales solubles en agua.

20 Las sales no tóxicas de los compuestos de la presente invención incluyen, por ejemplo: sales de metales alcalinos (por ejemplo, potasio, sodio, litio, etc.), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio, magnesio, etc.), sales de amonio (por ejemplo, sal tetrametilamonio, sal tetrabutilamonio, etc.), sales de amina orgánicas (por ejemplo, trietilamina, metilamina, dimetilamina, ciclopentilamina, bencilamina, fenetilamina, piperidina, monoetanolamina, dietanolamina, tris(hidroximetil)metilamina, lisina, arginina, N-metil-D-glucamina, etc.) y sales de adición de ácidos (sales de ácidos orgánicos (por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, fosfato, nitrato, etc.), sales de ácidos orgánicos (por ejemplo, acetato, trifluoroacetato, lactato, tartrato, oxalato, fumarato, maleato, benzoato, citrato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, toluenosulfonato, isetionato, glucuronato, gluconato, etc.), etc.).

30 Las sales no tóxicas de los compuestos de la presente invención incluyen solvatos de los mismos o solvatos de sales de metales alcalinos, sales de metales alcalinotérreos, sales de amonio, sales de aminas orgánicas y sales de adición de ácidos de los compuestos de la presente invención.

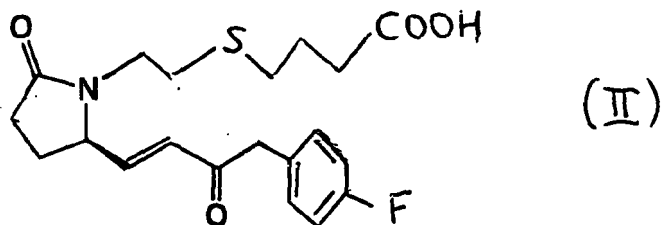
35 Se prefieren solvatos no tóxicos y solubles en agua. Los solvatos de los compuestos de la presente invención, por ejemplo, incluyen: hidratos, solvatos de los alcoholes (etanol, etc.), etc.

40 Los compuestos de la presente invención pueden convertirse en los clatratos de ciclodextrinas correspondientes por el método descrito en la memoria descriptiva del documento JP-B-50-3362, 52-31404 ó 61-52146 usando α -, β - o γ -ciclodextrina o una mezcla de los mismos. La conversión en los clatratos de ciclodextrina correspondiente sirve para aumentar la estabilidad y la solubilidad en agua de los compuestos y por lo tanto es útil el uso para productos farmacéuticos.

Proceso para producir los compuestos de la invención

45 Entre los compuestos de la invención, los de fórmula (I) pueden producirse de acuerdo con lo métodos mencionados a continuación o de acuerdo con lo métodos que se describen en los Ejemplos mencionados a continuación.

Los compuestos de fórmula (I) pueden producirse reduciendo un compuesto de fórmula (II):



- 5 en la que el carboxilo puede protegerse, si se necesita;
y después retirando opcionalmente el grupo protector del producto resultante.

La reacción para la reducción es conocida, y puede realizarse, por ejemplo, procesando el compuesto en un disolvente orgánico (por ejemplo, tetrahidrofurano, dimetoxietano, tolueno, cloruro de metileno, éter dietílico, dioxano) en presencia de un agente reductor (por ejemplo, complejo borohidruro-tetrahidrofurano, complejo-sulfuro de dimetilo, diborana) y un inductor asimétrico (por ejemplo, (R)-2-metil-CBS-oxazaborolisina, (S)-2-metil-CBS-oxazaborolisina) de -20 a 50 °C.

La retirada del grupo protector puede efectuarse de acuerdo con los métodos que se mencionan a continuación.

La reacción para retirar el grupo protector de carboxilo, hidroxilo o amino es bien conocida, incluyendo, por ejemplo, las que se indican a continuación:

- (1) hidrólisis alcalina,
 (2) desprotección en condiciones ácidas,
 (3) desprotección a través de hidrogenólisis,
 (4) desprotección de sililo,
 (5) desprotección con metal,
 (6) desprotección con metal orgánico.

Estos métodos se describen en concreto.

(1) La desprotección a través hidrólisis alcalina puede efectuarse, por ejemplo, en un disolvente orgánico (por ejemplo, metanol, tetrahidrofurano, dioxano) mediante el uso de un hidróxido de metal alcalino (por ejemplo, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido de litio), un hidróxido de metal alcalinotérreo (por ejemplo, hidróxido de bario, hidróxido de calcio) o un carbonato (por ejemplo, carbonato sódico, carbonato potásico) o una solución acuosa de los mismos o sus mezclas, de 0 a 40 °C.

(2) La desprotección en condiciones ácidas puede efectuarse, por ejemplo, en un disolvente orgánico (por ejemplo, diclorometano, cloroformo, dioxano, acetato de etilo, anisol) con un disolvente orgánico (por ejemplo, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico) o un ácido inorgánico (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico) o sus mezclas (bromuro de hidrógeno/ácido acético), de 0 a 100 °C.

(3) La desprotección a través de hidrogenólisis puede efectuarse, por ejemplo, en un disolvente (por ejemplo, de tipo éter (por ejemplo, tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano, éter dietílico), de tipo alcohol (por ejemplo, metanol, etanol), de tipo benceno (por ejemplo, benceno, tolueno), de tipo cetona (por ejemplo, acetona, metil etil cetona), de tipo nitrilo (por ejemplo, acetonitrilo), de tipo amida (por ejemplo, dimetilformamida), agua, acetato de etilo, ácido acético, o un disolvente mixto de dos o más de los mismos), en presencia de a catalizador (por ejemplo, paladio-carbono, negro de paladio, hidróxido de paladio, óxido de platino, níquel Raney), en una atmósfera de hidrógeno a presión normal o presión aumentada o en presencia de formiato amónico, de 0 a 200 °C.

(4) La desprotección de sililo, por ejemplo, en un disolvente orgánico miscible en agua (por ejemplo, tetrahidrofurano, acetonitrilo) mediante el uso de fluoruro de tetrabutilamonio, de 0 a 40 °C.

(5) La desprotección con metal puede efectuarse, por ejemplo, en un disolvente ácido (ácido acético, tampón que tiene un pH de 4,2 a 7,2, o mezcla de su solución con un disolvente orgánico, tal como tetrahidrofurano) en presencia de polvo de cinc con o sin ondas ultrasónicas aplicados a los mimos, de 0 a 40 °C.

(6) La desprotección con complejo metálico puede efectuarse, por ejemplo, en un disolvente orgánico (por ejemplo, diclorometano, dimetilformamida, tetrahidrofurano, acetato de etilo, acetonitrilo, dioxano, etanol), agua o sus disolventes mixtos, en presencia de reactivo de trampa (por ejemplo, hidruro de tributilestaño, trietilsilano, dimedona, morfolina, dietilamina, pirrolidina), un ácido orgánico (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico, ácido 2-etilhexanoico) y/o una sal de ácido orgánico (por ejemplo, 2-etilhexanoato sódico, 2-etilhexanoato potásico), en presencia o ausencia de un reactivo de tipo fosfina (por ejemplo, trifenil fosfina), mediante el uso de un complejo metálico (tetraquitrifenilfosfina paladio (0), diclorobis (trifenilfosfina)paladio (II), acetato de paladio (II),

clorotris(trifenilfosfina)rodio (I)), de 0 a 40 °C.

A parte de lo anterior, la desprotección también puede efectuarse, por ejemplo, de acuerdo con los métodos descritos en T.W Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, New York, 1999.

El grupo protector de carboxilo incluye, por ejemplo, metilo, etilo, alilo, *t*-butilo, tricloroetilo, bencilo (Bn) y fenacilo.

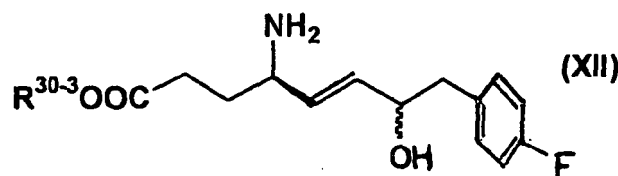
El grupo protector de hidroxilo incluye, por ejemplo, metil tritilo, metoximetilo (MOM), 1-etoxietilo (EE), metoxietoxietilo (MEM), 2-tetrahidropiraniolo (THP), trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), *t*-butildimetilsililo (TB-DMS), *t*-butildifenilsililo (TBDPS), acetilo (Ac), pivaloilo, benzoilo, bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo, aliloxycarbonilo (Alloc) y 2,2,2-tricloroetoxycarbonilo (Troc).

El grupo protector de amino incluye, por ejemplo, benciloxycarbonilo, *t*-butoxycarbonilo, aliloxycarbonilo (Alloc), 1-metil-1-(4-bifenil)etoxycarbonilo (Bpoc), trifluoroacetilo, 9-fluorenilmetoxycarbonilo, bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo, benciloximetilo (BOM) y 2-(trinitilsilil)etoximetilo (SEM).

El carboxilo, hidroxilo o amino protector puede ser cualquiera distinto de los mencionados anteriormente, capaz de retirarse fácil y selectivamente y son se definen específicamente. Por ejemplo, pueden usarse los que se describen en T.W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª Ed., Wiley, New York, 1999.

Los compuestos pretendidos de la invención pueden producirse fácilmente a través de un uso selectivo de la reacción de desprotección, que podría comprenderse fácilmente por un experto en la materia.

2) Los compuestos de fórmula (I) pueden producirse a través de aminación reductora de un compuesto de fórmula (XII):



en la que R³⁰⁻³ representa alquilo C1-10; con un compuesto de fórmula (XIII):



en la que el carboxilo puede protegerse, si se necesita.

La reacción para aminación reductora se conoce y puede efectuarse, por ejemplo, en un disolvente orgánico (por ejemplo, acetato de etilo, dicloroetano, diclorometano, dimetilformamida, tetrahidrofurano, ácido acético o sus mezclas) en presencia de un agente reductor (por ejemplo triacetoxiborohidruro sódico, borocianohidruro sódico, borohidruro sódico, borohidruro de cinc, hidruro de diisobutilaluminio) de -15 a 100 °C, o en un disolvente orgánico (por ejemplo, acetato de etilo, dicloroetano, diclorometano, metanol, etanol, ácido acético o sus mezclas) en presencia de un catalizador (por ejemplo, paladio-carbono, negro de paladio, hidróxido de paladio, óxido de platino, níquel Raney) en una atmósfera de hidrógeno a presión normal o a presión reducida de 0 a 200 °C.

Los compuestos de las fórmulas (II), (XII) y (XIII) son *per se* conocidas, o se producen fácilmente por métodos conocidos.

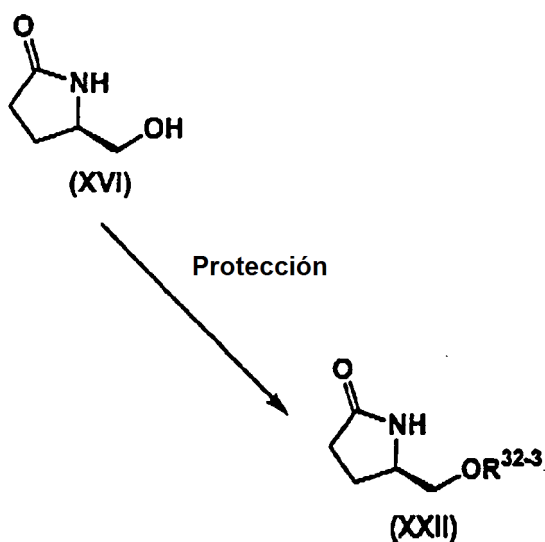
Por ejemplo, los compuestos de las fórmulas (II) y (XII) pueden producirse de acuerdo con los siguientes procesos de reacción 1, 2 y 3.

En estos procesos de reacción, R^{32-3} representa hidroxilo protector, Ac representa un grupo acetilo, R^{33-3} representa un halógeno, R^{36-3} representa un grupo protector amino y los otros símbolos tienen los significados que se han definido anteriormente.

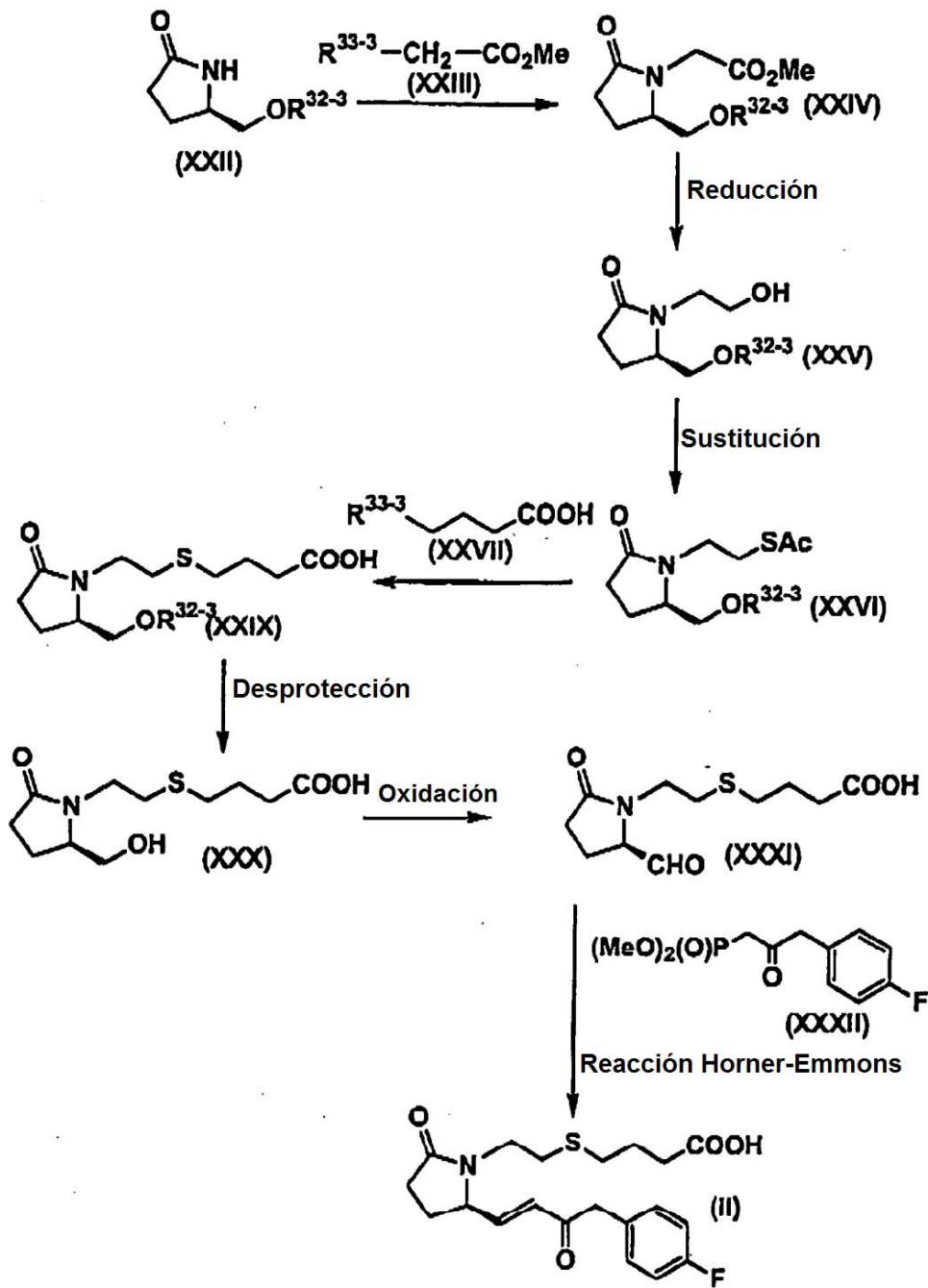
El carboxilo puede protegerse, si se necesita.

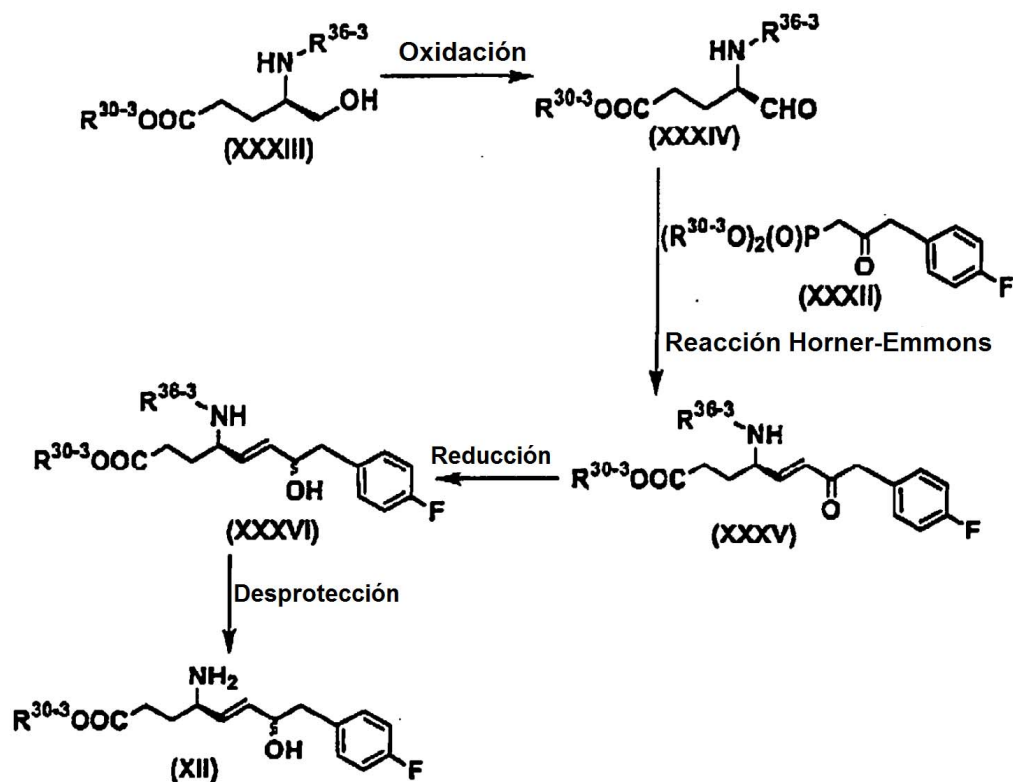
5

Proceso de Reacción 1



Proceso de Reacción 2



Proceso de Reacción 3

En los procesos de reacción 1, 2 y 3, los compuestos de partida de las fórmulas (XVI), (XXIII), (XXVII), (XXXII) y (XXXIII) son conocidos, o pueden producirse fácilmente por métodos conocidos.

5

El producto de reacción en cada etapa de reacción en esta descripción puede purificarse de manera corriente, por ejemplo, a través de destilación a presión normal o reducida, o a través de cromatografía líquida de alto rendimiento, cromatografía de capa fina o cromatografía en columna sobre gel de sílice o silicato de magnesio, o a través de lavado o recristalización. La purificación puede realizarse en cada etapa de reacción o después de algunas etapas de reacción.

10

Aplicabilidad industrial**Aplicación para preparaciones farmacéuticas:**

15

Los compuestos de la invención representados por la fórmula (I) actúan de manera específica y fuertemente sobre el subtipo EP₄ del receptor de PGE y por eso se consideran útiles para la prevención y/o tratamiento de enfermedades inmunológicas (es decir, enfermedades autoinmunes tales como esclerosis amiotrófica lateral (ALS), esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren, reumatismo crónico y lupus eritematoso sistémico, etc., rechazo después de trasplante de órganos, etc.) y enfermedades tales como asma, muerte de neurocitos, artritis, trastorno pulmonar, fibrosis pulmonar, enfisema pulmonar, bronquitis, enfermedad respiratoria obstructiva crónica, hepatopatía, hepatitis aguda, nefritis (nefritis aguda, nefritis crónica), insuficiencia renal, hipertensión, isquemia miocárdica, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, septicemia, síndrome hemofagocítico, síndrome de activación de macrófagos, enfermedad de Still, enfermedad de Kawasaki, quemadura, granulomatosis sistémica, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, hipercitoquinemia en la diálisis, disfunción multiorgánica y choque. El receptor de EP₄ también participa en la acción protectora de la membrana mucosa y por tanto se considera útil para la prevención y/o tratamiento de úlceras en el tracto digestivo tales como úlcera gástrica y úlcera duodenal y estomatitis. El receptor de EP₄ adicionalmente participa en la acción tricogenosa y en la acción del crecimiento del pelo y se considera útil para la prevención y/o tratamiento de alopecia. Además, el receptor de EP₄ participa en la maduración del canal cervical y por tanto se considera útil como agente de maduración del canal cervical.

25

Adicionalmente, el compuesto unido a receptores de EP₄ tiene una acción aceleradora de la osteogénesis y por tanto no solo se considera útil para la prevención y/o tratamiento de enfermedades óseas en las que la cantidad de hueso disminuye, por ejemplo, 1) osteoporosis primaria debida por ejemplo, al envejecimiento, menopausia, ovariectomía, 2) osteoporosis secundaria (por ejemplo, osteoporosis inducida por glucocorticoides, osteoporosis inducida por

35

hipertiroidismo, osteoporosis inducida por inmovilización, osteoporosis inducida por heparina, osteoporosis inducida por inmunosupresión, osteoporosis debida a insuficiencia renal, osteoporosis inflamatoria, osteoporosis debida a síndrome de Cushing, osteoporosis reumática), 3) enfermedades óseas tales como transferencia de cáncer al hueso, hipercalcinemia, enfermedad de Behcet, deficiencia ósea (por ejemplo, deficiencia ósea alveolar, deficiencia mandibular, deficiencia ósea idiopática infantil) y osteonecrosis sino también útil como un agente para acelerar la osteogénesis/tratamiento después de cirugía ósea (por ejemplo, fractura, injerto de hueso, artrogénesis artificial, fusión espinal, otra restauración ósea) o sustituto para transferencia de hueso.

Adicionalmente, EP₄ actúa para inducir sueño fisiológico e inhibir la agregación plaquetaria y el compuesto unido al receptor de EP₄ se considera útil para la prevención de somnipatía y trombosis.

El compuesto unido selectivamente a EP₄ no tiene efecto transmisor del dolor presumiblemente atribuido a EP₁ ni efecto de contracción del útero presumiblemente atribuido a EP₃ y por tanto se considera que es una preparación farmacéutica que no tiene dichos efectos.

El compuesto representado por la fórmula (I) o sal no tóxica del mismo puede administrarse en combinación con otras preparaciones farmacéuticas para conseguir los siguientes objetivos:

- 1) Compensar y/o potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto a combinar;
- 2) Mejorar la cinética/absorción del compuesto a combinar y reducir la dosis del compuesto; y/o
- 3) Eliminar el efecto secundario del compuesto a combinar.

El compuesto representado por la fórmula (I) y otras preparaciones farmacéuticas pueden administrarse en forma de formulación que tiene estos componentes incorporados en una preparación o puede administrarse en preparaciones individuales. En el caso de administrar estas preparaciones farmacéuticas en preparaciones individuales, estas pueden administrarse simultáneamente o en momentos diferentes. En el último caso, el compuesto representado por la fórmula (I) puede administrarse antes de las otras preparaciones farmacéuticas. Como alternativa, las otras preparaciones farmacéuticas pueden administrarse antes del compuesto representado por la fórmula (I). El método para administrar estas preparaciones farmacéuticas puede ser el mismo o diferente.

Las enfermedades en las que funciona el efecto preventivo y/o de tratamiento de las preparaciones anteriormente mencionadas combinadas no se limitan específicamente aunque pueden ser aquellas en las que el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) se compensa y/o se potencia.

Los ejemplos de las otras preparaciones farmacéuticas para compensar y/o potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) en enfermedades óseas incluye preparación de bisfosfonato, inhibidor de fosfodiesterasas-4, preparación de vitamina D, preparación de estrógeno, adyuvante de calcio, preparación de calcitonina, preparación basada en isoflavonas, preparación de esteroides anabólicos, preparación de vitamina K, inhibidor de catepsina K, prostaglandinas, estatina, hormona paratiroidea y factores de crecimiento.

Los ejemplos de las otras preparaciones farmacéuticas para compensar y/o potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) en enfermedades pulmonares obstructivas crónicas y/o asma incluyen preparación de inhibidores de fosfodiesterasas-4, de esteroides, estimulantes de β_2 adrenoreceptores, antagonistas de receptores de leucotrieno, inhibidor de la enzima de la síntesis de tromboxano, antagonistas del receptor A₂ de tromboxano, inhibidor de liberación de mediadores, antihistaminas, derivados de xantina, preparación anticolinérgica, inhibidor de citocina, prostaglandinas, inhibidor de metaproteasa, expectorante y antibiótico.

Los ejemplos de las otras preparaciones farmacéuticas para compensar y/o potenciar el efecto de preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) en artritis o reumatismo articular crónico, incluyen inhibidor de metaproteasas, inmunosupresor, antiinflamatorio no esteroideo (NSAID), preparación esteroidea e inhibidor de fosfodiesterasas 4.

Los ejemplos de las otras preparaciones farmacéuticas para compensar y/o potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) en insuficiencia eréctil incluyen inhibidores de fosfodiesterasas-5.

Los ejemplos de las otras preparaciones farmacéuticas para compensar y/o potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) en choque incluyen inhibidores de elastasa.

Los ejemplos de las otras preparaciones farmacéuticas para compensar y/o potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) en la colitis incluyen preparación esteroidea, inhibidor de fosfodiesterasas-4, antiinflamatorio no esteroideo, antagonistas de receptores de tromboxano A₂, antagonistas de receptores de leucotrienos, antagonista de angiotensina II, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina y diuréticos.

- Los ejemplos de las otras preparaciones farmacéuticas para compensar y/o potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la fórmula (I) en hipertensión incluyen antagonista de calcio, antagonista de angiotensina II, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, inhibidor de fosfodiesterasas-4 y diuréticos.
- 5 Los ejemplos de inhibidor de fosfodiesterasas-4 incluyen rolipram, cilomilast (nombre comercial: Ariflo), Bay 19-8004, NIK-616, cilomilast (BY-217), cipamfilina (BGL-61063), atizolam (CP-80633), SCH-351591, YM-976, V-11294A, PD-168787, D-4386, e IC-485.
- 10 Los ejemplos de inhibidor de fosfodiesterasa-5 incluyen sildenafil.
- Los ejemplos de preparaciones de bisfosfonato incluyen alendronato sódico, clodronato disódico, pamidronato sódico, etidronato disódico, ivandronato, incadronato disódico, minodronato, olpadronato, risedronato sódico, tildronato y zoledronato.
- 15 Los ejemplos de preparaciones de calcitonina incluyen calcitonina y elcatonina.
- Los ejemplos de las prostaglandinas (en lo sucesivo en este documento abreviado "PG") incluyen agonistas de receptores de PG y antagonistas de receptores de PG.
- 20 Los ejemplos de receptores de PG incluyen receptores de PGE (EP₁, EP₂, EP₃, EP₄), receptores de PGD (DP), receptores de PGF (FP) y receptores de PGI (IP).
- Los ejemplos de la preparación de esteroides para aplicación externa incluyen propionato de clobetasol, acetato de diflorasona, fluocinonida, monometasona, furancarboxilato de monometasona, dipropionato de betamesona, butiropropionato de betamesona, valerato de betametasona, difluprednato, budesonida, valerato de diflucortolona, amcinonida, halcinonida, dexametasona, propionato de dexametasona, valerato de dexametasona, acetato de dexametasona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, acetopropionato de hidrocortisona, propionato de deprodona, valeroacetato de prednisolona, acetónido de fluocinolona, dipropionato de beclometasona, acetónido de triamcinolona, pivalato de flumetasona, prednisolona, propionato de beclometasona y fludroxicortida.
- 25 Los ejemplos de la preparación de esteroides para uso interno o inyección incluyen acetato de cortisona, hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, acetato de fludrocortisona, prednisolona, acetato de prednisolona, succinato sódico de prednisolona, butilacetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, acetato de halopredona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, triamicinolona, acetato de triamicinolona, acetónido de triamicinolona, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, palmitato de dexametasona, acetato de parametasona, y betametasona.
- 30 Los ejemplos de la preparación de esteroides como un inhalante incluyen propionato de beclometasona, propionato de fluticasona, budesonida, flunisolida, triamcinolona, ST-126P, ciclesonida, palmitato de dexametasona, furancarboxilato de monometasona, sulfonato de prasterona, deflazacort, estreptanato de metil prednisolona y succinato sódico de metilprednisolona.
- 40 Los ejemplos del estimulante β_2 adrenoreceptor incluyen hidrobromuro de fenoterol, sulfato de salbutamol, sulfato de terbutalina, fumarato de formoterol, xinafoato de salmeterol, sulfato de isoprotenol, sulfato de orciprenalina, sulfato de cloroprenalina, epinefrina, hidrocloruro de trimetoquinol, sulfato de hexoprenalina mesil, hidrocloruro de procaterol, hidrocloruro de tulobuterol, tulobuterol, hidrocloruro de pirbuterol, hidrocloruro de clenbuterol, hidrocloruro de mabuterol, hidrocloruro de ritodrina, bambuterol, hidrocloruro de dopexamina, meradrin tartrato, AR-C68397, levosalbutamol, R,R- formoterol, KUR-1246, KUL-7211, AR-C89855 y S-1319.
- 45 Los ejemplos del antagonista de receptores de leucotrieno incluyen hidrato de pranlukast, montelukast, zafirlukast, seratrodist, MCC-847, KCA-757, CD-615, YM-158, L-740515, CP-195494, LM-1484, RS-635, A-93178, S-36496, BIIL-284 y ONO-4057.
- 50 Los ejemplos del inhibidor de la enzima de la síntesis de tromboxano incluyen clorhidrato de ozagrel e imitrodast de sodio.
- 55 Los ejemplos del antagonista de receptores de tromboxano A₂ incluyen seratrodist, ramatroban, domitroban calcio dihidratado y KT-2-962.
- 60 Los ejemplos del inhibidor de liberación de mediadores incluyen tranilast, cromoglicato sódico, anlexanox, repirinast, ibudilast, tazanolast y pemilolast sódico.
- 65 Los ejemplos de las antihistaminas incluyen fumarato de ketotifeno, mequitacina, hidrocloruro de azelastina, oxatomida, terfenadina, fumarato de emedastina, hidrocloruro de epinastina, astemizol, ebastina, hidrocloruro de

cetirizina, bepotastina, fexofenadina, lolatadina, deslolatadina, hidrocloreuro de olopatadina, TAK-427, ZCR-2060, NIP-530, furoato de mometasona, mizolastina, BP-294, andolast, auranoquina y acribastina.

Los ejemplos de derivados de xantina incluyen aminofilina, toefilina, doxofilina, cipamfilina y diprofilina.

5 Los ejemplos de la preparaci3n de anticolin3rgicos incluyen bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, bromuro de flutropio, termiverina, bromuro de tiotropio y revatropato (UK-112166).

Los ejemplos del inhibidor de citocina incluyen tosilato de suplatast (nombre comercial: IPD).

10 Los ejemplos del expectorante incluyen esp3ritu de amonio fenculado, hidrogenocarbonato de sodio, hidrocloreuro de bromhexina, carbociste3na, hidrocloreuro de ambroxol, hidrocloreuro de ambroxol de liberaci3n prolongada, hidrocloreuro de metilciste3na, acetilciste3na, hidrocloreuro de L-etilciste3na y tiloxapol.

15 Los ejemplos de los factores de crecimiento incluyen factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y factor de crecimiento de tipo insulina.

20 Los ejemplos del antiflog3stico no esteroideo incluyen sasapirina, salicilato de sodio, aspirina, formulaci3n de dialuminato de aspirina, diflunisal, indometacina, suprofen, ufenamato, dimetilisopropil azuleno, bufexamac, felbinac, diclofenaco, tolmetin s3dico, Clinoril, fenbufeno, napmetona, proglumetacina, indometacin farnesil, acemetacin, proglumetacin maleato, amfenaco s3dico, mofezolac, etodolac, ibuprofeno, ibuprofeno piconol, naproxeno, flurbiprofeno, flubirprofen axetil, ketoprofeno, fenoprofeno de calcio, tiaprofeno, oxaprozin, pranorprofeno, loxoprofeno s3dico, aluminoprofeno, zatoprofeno, 3cido mefen3mico, mefenamato de aluminio, 3cido tolfen3mico, floctafenina, ketofenilbutazona, oxifenbutazona, piroxicam, tenoxicam, anpiroxicam, crema de napage3na, epirizol, hidrocloreuro de tiaramida, hidrocloreuro de tinoridina, emorfazona, sulpirina, Migrenina, Saridon, Sedes G, Ampilo N, Sorbon, antipir3ticos de sistema de pirina, acetaminofeno, fenacetina, mesilato de dimetotiacina, formulaci3n de simetrida y antipir3ticos del sistema antipirina.

30 Los ejemplos del diur3tico incluyen manitol, furosemida, acetazolamida, diclofenamida, matazolamida, triclometiazida, mefrusida, espinolactona y aminofilina.

La proporci3n en peso del compuesto representado por la f3rmula (I) y las otras preparaciones farmac3uticas no est3 espec3ficamente limitada.

35 Arbitrariamente dos o m3s de las otras preparaciones farmac3uticas pueden administrarse en combinaci3n.

Los ejemplos de las otras preparaciones farmac3uticas para compensar y/o para potenciar el efecto preventivo y/o de tratamiento del compuesto representado por la f3rmula (I) no solo incluyen aquellos que ya se han encontrado sino tambi3n aquellos que se encontrar3n bas3ndose en el mecanismo mencionado anteriormente.

40 Para usar el compuesto de la invenci3n representado por la f3rmula (I) o el compuesto representado por la f3rmula (I) en combinaci3n con las otras preparaciones farmac3uticas, estos compuestos normalmente se administran a toda o parte local del organismo humano por v3a oral o parenteral.

45 La dosis de estos compuestos depende de la edad, peso y s3ntomas del paciente, del valor medicinal, del m3todo de administraci3n, del tiempo de tratamiento, etc. En la pr3ctica, sin embargo, estos compuestos se administran por v3a oral una o varias veces al d3a cada uno en una cantidad de 1 ng a 100 mg por adulto, por v3a parenteral una o varias veces al d3a cada uno en una cantidad de 0,1 ng a 00 mg por adulto o se administran de manera continuada en la vena durante 1 hora a 24 horas al d3a.

50 No es preciso decir que la dosis de estos compuestos puede ser menor que el valor anteriormente indicado o puede ser necesario superar el intervalo mencionado anteriormente porque la dosis var3a dependiendo de diversas condiciones como se ha mencionado anteriormente.

55 Cuando los compuestos de la invenci3n representados por la f3rmula (I) o el compuesto representado por la f3rmula (I) se administra en combinaci3n con las otras preparaciones farmac3uticas, estos se usan en forma de agente s3lido o l3quido para administraci3n oral, inyecci3n, agente para aplicaci3n externa, supositorios, colirios o inhalantes para la administraci3n parenteral.

60 Los ejemplos del agente s3lido para la administraci3n oral incluyen, comprimidos, p3ldoras, c3psulas, polvos y gr3nulos. Los ejemplos de las c3psulas incluyen c3psulas duras y c3psulas blandas.

65 En dicho agente s3lido para aplicaci3n interna, se usan uno o m3s materiales activos en forma de preparaci3n producida por un m3todo habitual por separado o mezclado con un veh3culo (por ejemplo, lactosa, manitol, glucosa, celulosa microcristalina, almid3n), un aglutinante (por ejemplo, hidroxipropil celulosa, polivinilpirrolidona,

metasilicoaluminato de magnesio), un disgregante (por ejemplo, fibrinoglicolato de calcio), un emoliente (por ejemplo, estearato de magnesio), un estabilizante, un ayudante de disolución (por ejemplo, ácido glutámico, ácido aspártico). El agente sólido puede cubrirse con un agente de recubrimiento (por ejemplo, azúcar blanco, gelatina, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metil celulosa ftalato) o con dos o más capas. Como alternativa, el agente sólido puede encapsularse por medio de un material absorbible tal como gelatina.

Los ejemplos del agente líquido para administración oral incluyen soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes y elixires acuosos farmacéuticamente aceptables. En dicho agente líquido, uno o más agentes activos se disuelven, se suspenden o se emulsionan en un diluyente normalmente usado (por ejemplo, agua purificada, etanol, mezcla de los mismos). Adicionalmente, dicho agente líquido puede comprender un agente humectante, un agente en suspensión, un emulsionante, un agente edulcorante, un saporífero, un conservante, un tampón, *etc.*

El agente para administración parenteral puede estar, por ejemplo, en forma de pomada, gel, crema, compresa húmeda, pasta, linimento, nebulosa, inhalante, pulverizador, colirios, gotas nasales o similares. Cada uno de estos agentes contiene uno o más materiales activos y se preparan mediante métodos conocidos o normalmente usados en formulación.

La pomada se prepara mediante cualquier formulación conocida o normalmente usada. Por ejemplo, uno o más materiales activos se trituran o se disuelven en una base para preparar dicha pomada. La base de la pomada se selecciona de materiales conocidos o normalmente usados. Con cierto detalle, puede usarse ácido alifático superior o éster de ácido alifático superior (por ejemplo ácido adípico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, éster del ácido adípico, éster del ácido mirístico, éster del ácido palmítico, éster del ácido esteárico, éster del ácido oleico), cera (por ejemplo, cera de abeja, cera de ballena, ceresina), agente tensioactivo (por ejemplo, éster del ácido polioxietilentalquileterfosfórico), alcohol superior (por ejemplo, cetanol, alcohol estearílico, alcohol setostearílico), aceite de silicio (por ejemplo, dimetil polisiloxano), hidrocarburo (por ejemplo, vaselina hidrófila, vaselina blanca, lanonina purificada, parafina líquida), glicol (por ejemplo, etileglicol, dietilenglicol, propilenglicol, polietilenglicol, macrogol), aceite vegetal (por ejemplo, aceite de ricino, aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de trementina), agua, acelerador de la absorción y preventivo de erupción cutánea por separado o en una mezcla de dos o más de los mismos. La base puede comprender adicionalmente un humectante, un conservante, un estabilizante, un antioxidante, un perfume, *etc.*

El gel se prepara mediante cualquier formulación conocida o normalmente usada. Por ejemplo, para preparar dicho gel, uno o más materiales activos se disuelven en una base. La base del gel se selecciona de materiales conocidos o normalmente usados. Por ejemplo, se usa alcohol inferior (por ejemplo, etanol, alcohol isopropílico), agente quelante (por ejemplo, carboximetil celulosa, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, etil celulosa), agente neutralizante (por ejemplo, trietanolamina, diisopropanolamina), agente tensioactivo (por ejemplo, monoestearato de polietilenglicol), goma, agua, acelerador de la absorción y preventivo de erupción cutánea por separado o en una mezcla de dos o más de los mismos. La base del gel puede comprender adicionalmente un humectante, un antioxidante, un perfume, *etc.*

La crema se prepara mediante cualquier formulación conocida o normalmente usada. Por ejemplo, para preparar dicha crema, uno o más materiales activos se disuelven en una base. La base de crema se selecciona de materiales conocidos o normalmente usados. Por ejemplo, se usa éster de ácido alifático superior, alcohol inferior, hidrocarburo, alcohol polivalente (por ejemplo, polietilenglicol, 1,3-butilenglicol), alcohol superior (por ejemplo, 2-hexil decanol, cetanol), emulsionante (por ejemplo, polioxietileno alquil éter, éster de ácido alifático), agua, acelerador de absorción, y preventivo de erupción por separado o en una mezcla de dos o más de los mismos. La base de la crema puede comprender adicionalmente un humectante, un antioxidante, un perfume, *etc.*

La compresa húmeda se prepara mediante cualquier formulación conocida o normalmente usada. Por ejemplo, para preparar dicha compresa húmeda uno o más materiales se disuelven en una base para preparar una mezcla amasada que después se extiende sobre un soporte. La base de la compresa húmeda se selecciona de materiales conocidos o normalmente usados. Por ejemplo, puede usarse un agente espesante (por ejemplo, ácido poliacrílico, polivinilpirrolidona, goma arábiga, almidón, gelatina, metilcelulosa), un agente humectante (por ejemplo, urea, glicerina, propilenglicol), un relleno (por ejemplo, caolín, óxido de cinc, talco, calcio, magnesio), agua, ayudante de disolución, pegamento y preventivo de erupción cutánea, por separado o en una mezcla de dos o más de los mismos. La compresa húmeda puede comprender adicionalmente un humectante, un antioxidante, un perfume, *etc.*

El agente formador de pasta se prepara mediante cualquier formulación conocida o normalmente usada. Por ejemplo, para preparar dicho agente formador de pasta, uno o más materiales activos se disuelven en una base para preparar una mezcla amasada que después se extiende sobre un soporte. La base del agente formador de pasta se selecciona de materiales conocidos o normalmente usados. Por ejemplo, puede usarse una base polimérica, grasa y aceite, ácido alifático superior, adhesivo y preventivo de erupción cutánea por separado o en una mezcla de dos o más de los mismos. La base del agente formador de pasta puede comprender adicionalmente un humectante, un antioxidante, un perfume, *etc.*

El linimento se prepara mediante cualquier formulación conocida o normalmente usada. Por ejemplo, para preparar dicho linimento, uno o más materiales activos se disuelven, se suspenden o se emulsionan en agua, alcohol (por ejemplo, etanol, polietilenglicol), ácido alifático superior, glicerina, jabón, emulsionante, agente de suspensión, *etc.*, por separado o en combinación de dos o más de los mismos. El linimento puede comprender adicionalmente un humectante, un antioxidante, un perfume, *etc.*

Cada nebulosa, inhalante y pulverizador pueden comprender un estabilizante tal como hidrogenosulfito de sodio y un tampón que pueden proporcionar isotonicidad tal como un agente isotónico (por ejemplo, cloruro de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico). En el proceso para la preparación del pulverizador, puede hacerse referencia a las Patentes de Estados Unidos 2.868.691 y 3.095.355. Estos agentes también pueden estar en forma de aerosol.

La inyección para administración parenteral puede estar en forma de solución, suspensión, emulsión o inyección sólida para disolverse o suspenderse en un disolvente durante el uso. La inyección se prepara disolviendo, suspendiendo o emulsionando uno o más materiales activos en un disolvente. Como dicho disolvente puede usarse agua destilada para inyección, solución salina fisiológica, aceite vegetal, alcohol tal como polipropilenglicol, polietilenglicol y etanol, *etc.*, por separado o en combinación. La inyección puede comprender adicionalmente un estabilizador, un ayudante de disolución (por ejemplo, ácido glutámico, ácido aspártico, Polisolvato 80 (marca registrada)), un agente de suspensión, un emulsionante, un agente balsámico, un tampón, un conservante, *etc.* La inyección se esteriliza en la etapa final o se prepara mediante un proceso aséptico. Como alternativa, antes del uso, un agente sólido aséptico, tal como un producto liofilizado que se ha preparado previamente, puede hacerse aséptico o disolverse en agua destilada aséptica para inyección u otro disolvente.

Los colirios para administración parenteral pueden estar en forma de líquido, suspensión, emulsión o pomada o pueden disolverse en un disolvente al usarse.

Estos colirios se preparan mediante cualquier método conocido. Por ejemplo, uno o más materiales activos se disuelven, se suspenden o se emulsionan en un disolvente. Como dicho disolvente para colirios, puede usarse agua purificada esterilizada, solución salina fisiológica y otros disolventes acuosos o no acuosos (por ejemplo, aceite vegetal), por separado o en combinación. Los colirios pueden comprender un agente isotónico (por ejemplo, cloruro de sodio, glicerina concentrada), un agente tamponante (por ejemplo, fosfato de sodio, acetato de sodio), un agente tensoactivo (por ejemplo, Polisolvato 80 (marca registrada), polioxil estearato 40, aceite de ricino endurecido con polioxietileno), un estabilizante (citrato de sodio, edetato de sodio), un conservante (por ejemplo, cloruro de benzalconio, Parabeno), *etc.* adecuadamente de forma selectiva según sea necesario. Los colirios se esterilizan en la etapa final o se preparan mediante un proceso aséptico. Como alternativa, antes del uso, un agente sólido aséptico, tal como un producto liofilizado que se ha preparado previamente, puede hacerse aséptico o disolverse en agua destilada aséptica para inyección u otro disolvente.

El inhalante para administración parenteral puede estar en forma de aerosol, polvo o líquido para inhalación. El líquido para inhalación puede disolverse o suspenderse en agua u otro medio apropiado al usarse.

Estos inhalantes se preparan mediante un método conocido.

Por ejemplo, el líquido para inhalación se prepara a partir de materiales seleccionados adecuadamente de conservantes (por ejemplo, cloruro de benzalconio, Parabeno), colorantes, agentes tamponantes (por ejemplo, fosfato de sodio, acetato de sodio), agentes isotónicos (por ejemplo, cloruro de sodio, glicerina concentrada), agentes espesantes (por ejemplo, polímero carboxivinílico), aceleradores de absorción, *etc.* según sea necesario.

El polvo para inhalación se prepara a partir de materiales seleccionados adecuadamente de emolientes (por ejemplo, ácido esteárico y sus sales), aglutinantes (por ejemplo, almidón, dextrina), vehículos (por ejemplo, lactosa, celulosa), colorantes, conservantes (por ejemplo, cloruro de benzalconio, Parabeno), aceleradores de la absorción, *etc.*, según sea necesario.

Con objeto de administrar el líquido para inhalación, normalmente se usa un pulverizador (por ejemplo, atomizador, nebulizador). Para administrar el polvo para inhalación, normalmente se usa un inhalador para polvo.

Otros ejemplos de la composición para administración oral incluyen supositorios para administración rectal y pesarios para administración vaginal preparados por cualquier formulación habitual que comprenda uno o más materiales activos.

Aplicación local:

En lo que se refiere a la administración local de la invención, el agonista de EP₄ puede administrarse por vía local en el lugar de la enfermedad (particularmente enfermedades óseas en las que la cantidad de hueso está disminuida). La forma del agonista de EP₄ no está limitada a su método de administración. El agonista de EP₄ puede estar en forma de inyección, de agente sólido tal como agente de inclusión, gránulos y pomada o polvo para administrar al sitio intramuscular subcutáneo o articular.

La preparación de liberación prolongada no está limitada a su forma en lo que concierne al agonista de EP₄, pudiendo administrarse de manera continua en el lugar de la enfermedad (particularmente enfermedades óseas en las que la cantidad de hueso está disminuida). La preparación de liberación prolongada puede estar, por ejemplo, en forma de inyección de liberación prolongada (por ejemplo, preparación micro-encapsulada, preparación micro-esférica, preparación nanoesférica), preparación de inclusión (por ejemplo una preparación de tipo pelicular).

Cada preparación micro-encapsulada, micro-esférica y nanoesférica de la invención, es una composición farmacéutica finamente dividida con un polímero degradable *in vivo* que comprende, como componentes activos, el compuesto representado por la fórmula (I) opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas.

Los ejemplos de polímero degradable *in vivo* de la invención incluyen polímeros de ésteres de ácidos alifáticos y sus copolímeros, ésteres de ácidos poliacrílicos, ácidos polihidroxitútericos, oxalatos de polialquileno, poliortoésteres, policarbonatos y poliaminoácidos. Estos compuestos pueden usarse por separado o en una mezcla de dos o más de los mismos. Los ejemplos de polímeros de ésteres de ácidos alifáticos y sus copolímeros incluyen ácido poliláctico, ácido poliglicólico, ácido policítrico, ácido polimálico y copolímero del ácido láctico- ácido glicólico. Estos compuestos pueden usarse por separado o en mezcla de dos o más de los mismos. Junto con estos compuestos, pueden usarse ésteres de ácido poli- α -cianoacrílico, ácidos poli- β -hidroxibutíricos, politrimetilneoxatos, poliortoésteres, poliartocarbonatos, carbonatos de polietileno, ácidos de poli- γ -bencil-L-glutámico y poli-L-alaninas, por separado o en mezcla de dos o más de los mismos. Entre estos compuestos se prefieren los ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos y copolímeros del ácido láctico-ácido gliólico, más preferiblemente copolímeros del ácido láctico-ácido glicólico.

El peso molecular promedio de estos polímeros degradables *in vivo* a usar en la invención es preferiblemente de aproximadamente 2.000 a 800.000, más preferiblemente de aproximadamente 5.000 a 200.000. Por ejemplo, el ácido poliláctico tiene preferiblemente un peso molecular promedio en peso de aproximadamente 5.000 a 100.000, más preferiblemente de aproximadamente 6.000 a 50.000. El ácido poliláctico puede sintetizarse de acuerdo con cualquier método de preparación de por sí conocido. En el copolímero del ácido láctico-ácido glicólico, la proporción de la composición del ácido láctico con respecto al ácido glicólico es preferiblemente de aproximadamente 100/0 a 50/50 (p/p), particularmente de aproximadamente 90/10 a 50/50. El peso molecular promedio en peso del copolímero del ácido láctico-ácido glicólico es preferiblemente de aproximadamente 5.000 a 100.000, más preferiblemente de aproximadamente 10.000 a 80.000. El copolímero del ácido láctico-ácido glicólico puede sintetizarse de acuerdo con cualquier método de preparación de por sí conocido.

La expresión "peso molecular promedio en peso" como se usa en este documento se refiere a indicar el peso molecular en equivalencia de poliestireno determinado por cromatografía en gel de exclusión molecular (GPC).

El polímero degradable *in vivo* mencionado anteriormente, puede cambiarse dependiendo de la intensidad de la actividad farmacológica de los compuestos representados por la fórmula (I) y de los medicamentos que se deseen liberar siempre que se cumplan los objetivos de la invención anteriormente mencionados. Por ejemplo, el polímero degradable *in vivo* puede usarse en una cantidad de aproximadamente 0,2 a 10.000 veces, preferiblemente de aproximadamente 1 a 1.000 veces, más preferiblemente de aproximadamente 1 a 100 veces (en peso) con respecto al material fisiológicamente activo.

Los ejemplos del proceso para la preparación de preparaciones micro-esféricas, micro-encapsuladas y nanoesféricas incluyen el método de secado por inmersión (por ejemplo, el método o/w (aceite en agua), el método w/o, (agua en aceite) el método w/o/w), el método de separación de fases, el método de secado por pulverización, el método de granulación por fluido ultracrítico y métodos análogos de los mismos.

El método de secado por inmersión (método o/w) y el método de secado por pulverización se describirán a continuación.

(1) En el método de secado por inmersión (método o/w), se prepara en primer lugar una solución de un polímero degradable *in vivo* en un disolvente orgánico. El disolvente orgánico a usar en la preparación de las preparaciones microesférica, microencapsulada y nanoesférica tiene preferiblemente un punto de ebullición de 120°C o inferior. Los ejemplos del disolvente orgánico que puede emplearse en este documento incluyen hidrocarburos halogenados (por ejemplo, diclorometano, cloroformo), ésteres alifáticos (por ejemplo, etil acetato), éteres, hidrocarburos aromáticos y cetonas (por ejemplo, acetona). Estos compuestos pueden usarse mezclando dos o más a una proporción adecuada. Entre estos disolventes orgánicos se prefieren diclorometano y acetonitrilo, particularmente diclorometano. La concentración del polímero degradable *in vivo* en la solución orgánica depende del peso molecular del polímero degradable *in vivo*, del tipo del disolvente orgánico, etc. pero normalmente se predetermina que es de aproximadamente el 0,01 al 80% (v/p), preferiblemente de aproximadamente el 0,1 al 70% (v/p), más preferiblemente de aproximadamente el 1 al 60% (v/p). Después, se añade el compuesto representado por la fórmula (I) y se disuelve en la solución del polímero degradable *in vivo* en un disolvente orgánico obtenido de esta manera, opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas. La cantidad del compuesto representado por la fórmula (I) a añadir opcionalmente en

combinación con las otras preparaciones farmacéuticas depende de los tipos de las preparaciones farmacéuticas a añadir, de la acción de las preparaciones farmacéuticas en la osteogénesis, de la duración de la acción, etc., aunque normalmente es de aproximadamente el 0,001% al 90% (p/p), preferiblemente de aproximadamente el 0,01% al 80% (p/p), más preferiblemente de aproximadamente el 0,3 al 30% (p/p) calculada en relación con la solución del polímero degradable *in vivo* en un disolvente orgánico.

Posteriormente, la solución orgánica preparada de esta manera se añade a una fase acuosa que después se procesa mediante un emulsificante agitador o similar para formar una emulsión o/w. El volumen de la fase acuosa durante este procedimiento se predetermina que es de aproximadamente 1 a 10.000 veces, preferiblemente de aproximadamente 2 a 5.000 veces, particularmente de aproximadamente 5 a 2.000 veces con respecto al de la fase oleaginoso. A la fase acuosa puede añadirse un emulsionante cuya fase sea externa. Como tal, normalmente puede usarse un emulsionante de cualquier material que pueda formar una emulsión o/w estable. Los ejemplos de emulsionante que puede emplearse en este documento incluyen agentes tensioactivos aniónicos, agentes tensioactivos no aniónicos, derivados del aceite de ricino de polioxietileno, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, carboximetil celulosa, lecitina y gelatina. Estos compuestos pueden usarse en combinación apropiada. La concentración del emulsionante en la fase acuosa externa es preferiblemente de aproximadamente el 0,001% al 20% (p/p), más preferiblemente de aproximadamente el 0,01% al 10% (p/p), particularmente de aproximadamente el 0,05% al 5% (p/p).

La evaporación de disolvente que está en una fase oleaginoso puede conseguirse mediante cualquier método normalmente usado. Con más detalle, la evaporación del disolvente puede efectuarse a presión normal o disminuyendo gradualmente la presión con agitación mediante un agitador, agitador magnético o similar o puede efectuarse al ajustar la presión usando un evaporador rotativo. Después, la preparación micro-esférica obtenida de esta manera se fracciona mediante separación por centrifugación o filtración. La preparación micro-esférica se lava con una solución de agente tensioactivo, alcohol o similar varias veces para eliminar el compuesto libre representado por la fórmula (I) opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas y el emulsionante de la superficie de la misma de nuevo se dispersa en agua destilada o en un dispersante que contiene un vehículo (por ejemplo, manitol, sorbitol, lactosa) y después se liofiliza. En el método o/w mencionado anteriormente, la preparación micro-esférica puede prepararse por un método que implique la dispersión de los compuestos representados por la fórmula (I) en un disolvente de un polímero degradable *in vivo* en un disolvente orgánico, opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas, es decir, el método s/o/w.

(2) Para preparar la preparación micro-esférica por el método de secado por pulverización, se pulveriza un disolvente orgánico o emulsión que tenga disuelto en su interior, un polímero degradable *in vivo* y el compuesto representado por la fórmula (I), opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas, en la cámara de secado de un secador pulverizador (secado por pulverización) a través de una boquilla de manera que el disolvente orgánico o el agua se evapora en las gotas atomizadas en un periodo de tiempo extremadamente corto para preparar una preparación micro-esférica. Los ejemplos de boquillas que pueden emplearse en este documento incluyen dos boquillas para líquidos, boquilla de presión y disco giratorio. Es útil pulverizar un disolvente orgánico o una solución acuosa de un inhibidor de agregación (por ejemplo, manitol, lactosa, gelatina) al mismo tiempo con la pulverización de la emulsión o/w según sea necesario con objeto de inhibir la agregación de microesferas. La preparación micro-esférica, obtenida de esta manera, se pone después a presión reducida opcionalmente con calentamiento para eliminar el agua y el disolvente de la misma.

Los ejemplos de preparaciones de tipo pelicular incluyen material de tipo pelicular obtenido disolviendo el polímero degradable *in vivo*, mencionado anteriormente, y el compuesto representado por la fórmula (I), opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas, en un disolvente orgánico y después sometiendo la solución a evaporación hasta secar por completo y gelificar el material obtenido disolviendo el polímero degradable *in vivo* indicado anteriormente y el compuesto representado por la fórmula (I), opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas, en un disolvente apropiado y después añadir a la solución un agente de granulación (por ejemplo, celulosa, policarbonato).

La microesfera, microcápsula y nanoesfera de la invención pueden usarse tal cual. Como alternativa, puede procesarse una composición farmacéutica esférica, de tipo varilla, acicular, granulada, de tipo pelicular o de tipo crema como un material de partida para proporcionar preparaciones en diversas formas.

Adicionalmente, esta preparación puede usarse como una administración parenteral para administración local (por ejemplo, inyección, agente sólido, tal como un agente de inclusión, gránulo y polvo, agente líquido tal como suspensión, pomada, etc., para administrar en un lugar intramuscular, subcutáneo, orgánico o articular). Por ejemplo, para preparar una inyección a partir de la preparación micro-esférica, la preparación micro-esférica se suspende con un dispersante, un conservante, un agente isotónico, un tampón, un ajustador de pH, etc., para preparar una suspensión acuosa como una preparación práctica para inyección. Como alternativa, la preparación micro-esférica puede dispersarse con un aceite vegetal opcionalmente mezclado con un fosfolípido tal como lecitina o con un triglicérido de ácido alifático de cadena media (por ejemplo, Myglol-812) para preparar una suspensión oleaginoso como una inyección que pueda usarse prácticamente.

El diámetro de partícula de la preparación micro-esférica puede ser arbitrario en tanto que satisfaga la dispersabilidad deseada y el paso a través de la jeringa, si la preparación se usa como una suspensión para inyección. A modo de ejemplo, el diámetro promedio de partícula de la preparación micro-esférica es de

aproximadamente 0,1 a 300 μm , preferiblemente de aproximadamente 1 a 150 μm , más preferiblemente de aproximadamente 2 a 100 μm . La composición farmacéutica de la invención está preferiblemente en forma de suspensión, como se ha mencionado anteriormente. La composición farmacéutica de la invención también está preferiblemente en forma de partículas. Esto se debe a que la composición farmacéutica disminuye el exceso de dolor a los pacientes cuando se administra a través de una jeringa para usar en inyección hipodérmica o intramuscular habitual. Se prefiere particularmente que la composición farmacéutica de la invención esté en forma de inyección. Los ejemplos del método para hacer que la preparación micro-esférica sea aséptica incluyen el método en el que sea aséptica a lo largo de todas las etapas, implicando el método la esterilización por rayos gamma e implicando el método la adición de conservantes.

La composición farmacéutica de la invención puede usarse para el tratamiento de enfermedades óseas en las que la cantidad de hueso está disminuida porque el compuesto representado por la fórmula (I), opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas, puede liberarse gradualmente normalmente durante 1 semana a 3 meses, aunque dependiendo del tipo y de la cantidad añadida del polímero degradable *in vivo*. Entre estos tratamientos de enfermedades óseas, el tratamiento de fracturas a menudo requiere que la parte afectada se fije y se cubra con una escayola y la administración de las preparaciones farmacéuticas se realice solo una vez en lugar de frecuentemente. Por consiguiente, las preparaciones farmacéuticas administradas de esta manera están obligadas a acelerar el tratamiento de forma continua. Por tanto, la composición farmacéutica de la invención es particularmente útil en este tratamiento.

La dosis de la composición farmacéutica de la invención depende del tipo, contenido y forma del compuesto representado por la fórmula (I), opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas, de la duración de la liberación de las preparaciones farmacéuticas, del animal a administrar, etc., pero puede ser la cantidad eficaz del compuesto representado por la fórmula (I), opcionalmente en combinación con otras preparaciones farmacéuticas. Cuando se administra para fracturas como una preparación micro-esférica, por ejemplo, una dosis de tiempo para adultos (peso: 50 kg) es de aproximadamente 0,001 mg a 500 mg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 mg a 50 mg calculada en relación con el componente eficaz. La composición farmacéutica de la invención puede administrarse una vez 1 semana a 3 meses en la cantidad mencionada anteriormente.

Mejor Forma de realizar la Invención

Los siguientes Ejemplos de Referencia y Ejemplos pretenden ilustrar la presente invención.

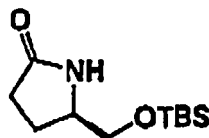
Los disolventes entre paréntesis en la sección de separaciones cromatográficas muestran el desarrollo o disolventes de elusión y las proporciones de los disolventes usados se indican en volumen

Sin explicación especial, los datos de RMN se determinaron en una solución de CDCl_3 . Y los disolventes entre paréntesis en la sección de datos de RMN muestran los disolventes usados en la determinación.

TBS es *t*-butildimetilsililo, Boc es *t*-butoxicarbonilo, Me es metilo, Et es etilo, Ac es acetilo.

Ejemplo de Referencia 1

(5R)-5-*t*-Butildimetilsililoximetilpirrolidin-2-ona

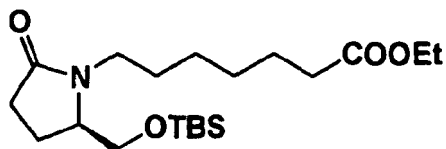


En una atmósfera de argón, una solución de (5R)-5-hidroxiimetilpirrolidin-2-ona (10 g) e imidazol (8,8 g) en dimetilformamida seca (50 ml) se añadió por una solución de cloruro de *t*-butildimetilsililo (15,6 g) en dimetilformamida seca (50 ml) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 5 horas. A la mezcla, se le añadió un disolvente mixto de acetato de etilo y hexano. La solución diluida se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (21,41 g) que tenía los siguientes datos físicos.

TLC : Rf 0,52 (Acetato de Etilo).

Ejemplo de Referencia 2

Éster etílico del ácido 9-oxo-1 3-t-butildimetilsililoxi-14,15,16,17,18,19,20-heptano-8-azaprostanoico



5

En una atmósfera de argón, una suspensión de hidruro sódico (3,42 g; 63,1% en aceite) en tetrahidrofurano seco (90 ml) se añadió a una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 1 (20,8 g) en tetrahidrofurano seco (90 ml) a temperatura ambiente. Después, se añadió dimetilformamida (180 ml) a la mezcla y la mezcla se agitó durante 45 minutos a 50 °C. A la mezcla, se le añadió una solución de éster etílico del ácido 7-bromoheptanoico (22,4 g) en dimetilformamida (20 ml) y la mezcla se agitó durante 4 horas. Después de un periodo de refrigeración, se añadió un disolvente mixto de acetato de etilo y hexano. La capa orgánica se lavó sucesivamente con ácido clorhídrico 0,5 N, agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (34,9 g) que tenía los siguientes datos físicos.

TLC : Rf 0,51 (Acetato de etilo:Hexano = 2:1).

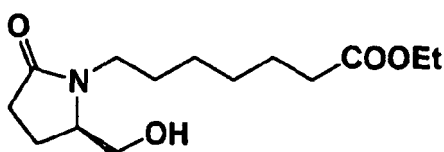
10

15

Ejemplo de Referencia 3

Éster etílico del ácido 9-oxo-13-hidroxi-14,15,16,17,18,19,20-heptano-8-azaprostanoico

20



25

30

A una solución del compuesto preparado en Ejemplo de Referencia 2 (34,9 g) en etanol (43 ml), se le añadió ácido p-toluenosulfónico (2,96 g) y la mezcla se agitó durante una noche a 50 °C. Se enfrió a temperatura ambiente, la mezcla se añadió por trietilamina (2,4 ml), se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (de acetato de etilo:hexano = 1:1 a únicamente acetato de etilo) para dar el compuesto del título (13,15 g) que tenía los siguientes datos físicos.

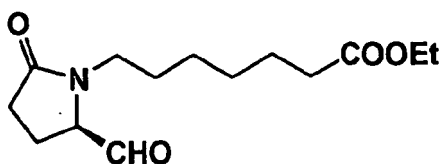
TLC: Rf 0,18 (Acetato de Etilo);

RMN : δ 4,12 (c, J = 7 Hz, 2H), 3,85-3,6 (m, 4H), 3,05-2,9 (m, 1H), 2,55-2,4 (m, 1H), 2,4-2,25 (m, 3H), 2,2-2,05 (m, 1H), 2,0-1,9 (m, 1H), 1,85-1,7 (a, 1H), 1,7-1,2 (m, 8H), 1,27 (t, J = 7 Hz, 3H).

Ejemplo de Referencia 4

Éster etílico del ácido 9-oxo-12-formil-13,14,15,16,17,18,19,20-octano-8-azaprostanoico

35



40

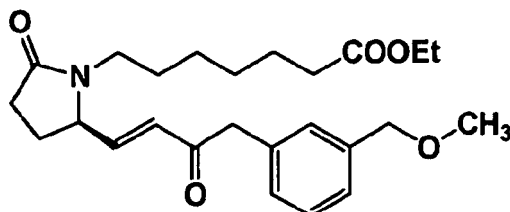
45

En una atmósfera de argón, se añadió una solución del compuesto preparado en Ejemplo de Referencia 3 (1,25 g) en acetato de etilo (10 ml) y dimetilsulfóxido seco (7 ml) por diisopropiletilamina (5,1 ml.). Después se añadió un complejo de trióxido de azufre-piridina (2,32 g) a la mezcla en un baño de hielo y la mezcla se agitó durante 1 hora a 0-15 °C. Se añadió una pequeña cantidad de agua la mezcla de reacción, la reacción se terminó. Se añadió cloroformo (10 ml) a la mezcla. La capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico 0,5 N, secado sobre sulfato sódico anhidro y se concentró presión reducida para dar el compuesto del título (1,25 g) que tenía los siguientes datos físicos, que se usó para la siguiente reacción sin purificación.

TLC : Rf 0,45 (Cloroformo:Metanol = 9:1).

Ejemplo de Referencia 5

éster etílico del ácido (13E)-9,15-dioxo-16-(3-metoximetilfenil)-17,18,19,20-tetranor-8-azaprost-13-enoico



5

En una atmósfera de argón, se añadió una solución de éster dimetilico del ácido 3-(3-metoximetilfenil)-2-oxopropilfosfónico (1,81 g) en tetrahidrofurano seco (35 ml) a hidruro sódico (222 mg; 63,1% en aceite) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. A la suspensión, se le añadió una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 4 (1,25 g) en tetrahidrofurano (5 ml) y la mezcla se agitó durante 3 horas. Después, se añadió acetato de etilo a la mezcla. La solución diluida se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo:hexano = de 2:1 a 3:1, después únicamente acetato de etilo) para dar el compuesto del título (1,23 g) que tenía los siguientes datos físicos. TLC: Rf 0,72 (cloroformo:Metanol = 9:1);

10

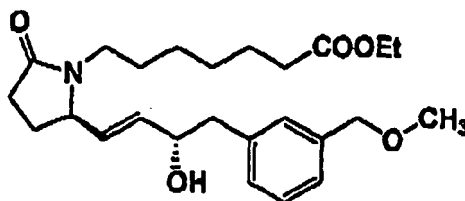
15

RMN : δ 7,35-7,10 (m, 4H), 6,65 (dd, J = 16, 8 Hz, 1H), 6,23 (d, J = 16 Hz, 1H), 4,42 (s, 2H) 4,2-4,1 (m, 3H), 3,85 (s, 2H), 3,6-3,5 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,8-2,65 (m, 1H), 2,5-2,2 (m, 5H), 1,85-1,7 (m, 1H), 1,7-1,5 (m, 2H), 1,5-1,2 (m, 9H).

Ejemplo de Referencia 6

20

(15 α ,13E)-9. Éster etílico del ácido oxo-15-hidroxi-16-(3-metoximetilfenil)-17,18,19,20-tetranor-8-azaprost-13-enoico



25

En una atmósfera de argón, se añadió una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 5 (1,23 g) en tetrahidrofurano seco (10 ml) por un solución 1,0 M de (R)-2-metil-(BS)-oxazaborolidina/tolueno (0,57 ml) a temperatura ambiente. Después, se añadió un complejo borano-tetrahidrofurano (2,32 ml) a la mezcla y la mezcla se agitó durante 45 minutos. A la mezcla, se le añadió ácido clorhídrico 1 N y acetato de etilo. La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (de únicamente acetato de etilo a acetato de etilo:hexano = 19:1) para dar el compuesto del título (1,05 g) que tenía los siguientes datos físicos.

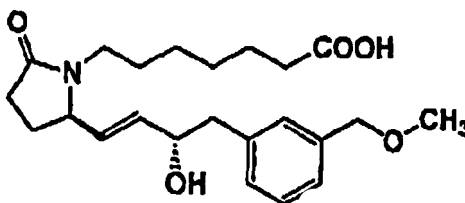
30

TLC : Rf 0,60 (Cloroformo:Metanol = 9:1);
RMN : δ 7,38-7,10 (m, 4H), 5,73 (dd, J = 15,3, 6,0 Hz, 1H), 5,50 (dd, J = 15,3, 8,0 Hz, 1H), 4,48-4,35 (m, 3H), 4,17-3,98 (m, 3H), 3,53-3,36 (m, 4H), 2,92-2,68 (m, 3H), 2,44-2,05 (m, 6H), 1,81-1,20 (m, 12H).

35

Ejemplo de Referencia 7

Ácido (15 α ,13E)-9-oxo-15-hidroxi-16-(3-metoximetilfenil)-17,18,19,20-tetranor-8-azaprost. 13-enoico



40

Una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 6 (105 g) en metanol (5 ml) se añadió a hidróxido sódico acuoso 2 N (4 ml) y la mezcla se agitó durante una noche A la mezcla, se le añadió éter dietílico (10

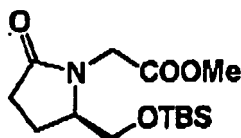
ml) y agua (20 ml) y la mezcla se agitó. Se añadió ácido clorhídrico 1 N a la capa acuosa para acidificarla y después se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (de únicamente cloroformo a cloroformo:metanol = 100:1, después 50:1, después 25:1) para dar el compuesto del título (837 mg) que tenía los siguientes datos físicos.

TLC : Rf 0,41 (Cloroformo:Metanol = 9:1);

RMN : δ 7,36-7,11 (m, 4H), 5,75 (dd, J = 15,3, 6,0 Hz, 1H), 5,51 (dd, J = 15,3, 8,0 Hz, 1H), 4,49-4,38 (m, 3H), 4,08-3,99 (m, 1H), 3,50-3,36 (m, 4H), 2,94-2,75 (m, 3H), 2,49-2,14 (m, 6H), 1,79-1,20 (m, 9H).

Ejemplo de Referencia 8

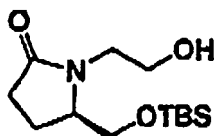
Éster metílico del ácido 2-((5R)-5-t-butildimetilsililoximetil-2-oxopirrolidin-1-il)acético



En una atmósfera de argón, se añadió una solución de t-butóxido potásico (11,58 g) en tetrahidrofurano seco (100 ml) a la solución del compuesto preparada en el Ejemplo de Referencia 1 (21,41 g) en tetrahidrofurano (200 ml) en una bañera de agua. Después de la mezcla se agitó durante 1 hora, se añadió una solución de éster metílico del ácido bromoacético (9,75 ml) en tetrahidrofurano (50 ml) a la misma. Después se añadió hexano a la mezcla. La solución diluida se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo:hexano = de 1:2 a 1:1, después 3:1) para dar el compuesto del título (22,13 g) que tenía los siguientes datos físicos. TLC: Rf 0,48 (Acetato de Etilo:Hexano =1:1).

Ejemplo de Referencia 9

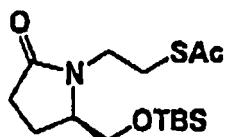
2-((5R)-5-t-Butildimetilsililoximetil-2-oxopirrolidin-1-il)etanol



A una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 8 (22,0 g) en tetrahidrofurano (100 ml), se le añadió borohidruro sódico (8,28 g) y la mezcla se agitó durante 5 minutos. Se añadió metanol (20 ml) a la misma y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Se añadió metanol (30 ml) a la misma de nuevo y la mezcla se agitó durante una hora. Después, se añadió agua a la mezcla y se añadió acetato de etilo se añadió a la misma. La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (19,75 g) que tenía los siguientes datos físicos. TLC : Rf 0,43 (Acetato de Etilo).

Ejemplo de Referencia 10

Tioacetato de (5R)-2-(5-t-butildimetilsililoximetil-2-oxopirrolidin)etilo

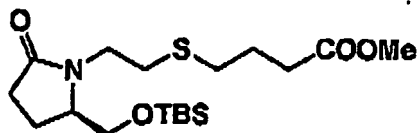


En una atmósfera de argón, se añadió una mezcla del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 9 (22,0 g), trietilamina (13,0 ml) y tetrahidrofurano seco (150 ml) a cloruro de mesilo (6,7 ml) a -5 °C y la mezcla se agitó durante 45 minutos. Después de que se completara la reacción, se añadió metanol (0,81 ml) se añadió a la misma y la mezcla se agitó durante 15 minutos. A la mezcla, se le añadió una mezcla de carbonato potásico (20,0 g), tioacetato potásico y dimetilformamida seca (150 ml) y la mezcla se agitó durante 3 horas a 50 °C, después durante 2 días a temperatura ambiente. Después, se añadió un disolvente mixto de acetato de etilo y hexano a la mezcla. La solución diluida se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (26,8 g) que tenía los siguientes datos físicos:

TLC: Rf 0,83 (Acetato de Etilo).

Ejemplo de Referencia 11

5 Éster metílico del ácido 9-oxo-13-(t-butildimetilsililoxi)-14,15,16,17,18,19,20-heptanor-5-tia-8-azaprostanico

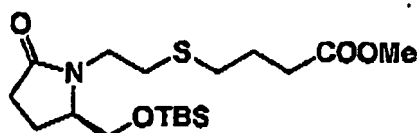


10 En una atmósfera de argón, se añadió una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 10 (26,8 g) y éster metílico del ácido 4-yodobutanoico (19,9 g) en metanol seco (150 ml) a carbonato potásico (14,0 g) y la mezcla se agitó durante 2 horas. Después, se añadió un disolvente mixto de éter dietílico y acetato de etilo a la mezcla. La solución diluida se lavó sucesivamente con ácido clorhídrico 0,5 N, agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (31,28 g) que tenía los siguientes datos físicos:

15 TLC : Rf 0,67 (Acetato de Etilo:Hexano =1:1).

Ejemplo de Referencia 12

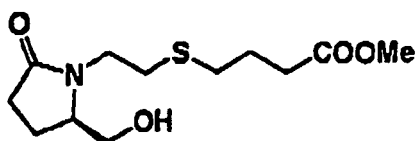
20 Éster metílico del ácido 9-oxo-13-hidroxi-14,15,16,17,18,19,20-heptanor-5-tia-8-azaprostanico



25 A una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 11 (31,28 g) en metanol (70 ml), se le añadió ácido p-toluenosulfónico monohidrato (2,41 g) y la mezcla se agitó durante 4 horas a 50 °C. Se enfrió a temperatura ambiente, la mezcla se añadió a trietilamina (1,95 ml), se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (de acetato de etilo:hexano = 1:1 a acetato de etilo: metanol = 100:1) para dar el compuesto del título (16,67 g) que tenía los siguientes datos físicos. TLC: Rf 0,14 (Acetato de Etilo).

30 Ejemplo de Referencia 13

Éster metílico del ácido 9-oxo-12-formil-13,14,15,16,17,18,19,20-octanor-5-tia-8-azaprostanico



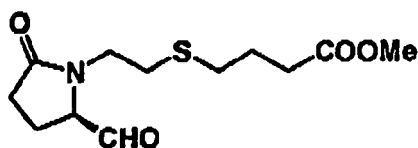
35 En una atmósfera de argón, una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 12 (1,04 g) y diisopropil-etilamina (3,8 ml) en un disolvente mixto de acetato de etilo (6 ml) y dimetilsulfóxido (6 ml) se añadió a un complejo trióxido de azufre-piridina (1,72 g) en un baño de hielo y la mezcla se agitó durante 40 minutos. Se añadió ácido clorhídrico 0,5 N a la mezcla de reacción, después la mezcla se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (1,0 g), que tenía los siguientes datos físicos. TLC : Rf 0,50 (Cloroformo: Metanol = 9:1).

45 Ejemplo 1

Mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo de Referencia 5, Ejemplos de Referencia 6 y 7, usando el compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 13 en lugar del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 4 y éster dimetílico del ácido 3-(4-fluorofenil)-2-oxopropilfosfónico en lugar de éster dimetílico del ácido 3-(3-metoximetilfenil)-2-oxopropilfosfónico, se obtuvo el compuesto de la presente invención que tenía los siguientes datos físicos.

50

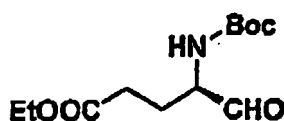
Ácido (15 α , 13E)-9-oxo-15-hidroxi-16-(4-fluorofenil)-17,18,19,20-tetranor-5-tia-8-azaprost-13-enoico



- 5 TLC: Rf 0,38 (Cloroformo:Metanol:Agua = 9:1:0,1);
 RMN: δ 7,20-7,16 (m, 2H), 7,04-6,96 (m, 2H), 5,75 (dd, J = 15,4, 6,0Hz, 1H), 5,50 (ddd, J = 15,4, 8,5, 1,1 Hz, 1H), 4,39 (m, 1H), 4:11 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,82 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 2,67-2,53 (m, 4H), 2,52-2,43 (m, 2H), 2,39 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,22 (m, 1H), 1,94-1,83 (m, 2H), 1,68 (m, 1H).

10 Ejemplo de Referencia 14

Éster etílico del ácido (4R)-4-t-butoxicarbonilamino-4-formilbutanoico

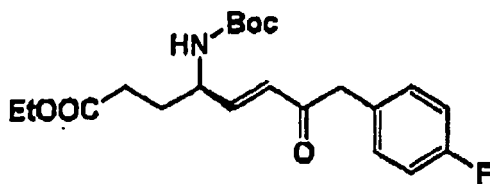


- 15 En una atmósfera de argón, a una solución de éster etílico del ácido (4R)-5-hidroxi-4-t-butoxicarbonilaminopentanoico (15,0 g), trietilamina (32,0 ml) y dimetilsulfóxido (39 ml) en acetato de etilo (120 ml), se le añadió una solución de complejo de trióxido de azufre piridina (18,3 g) en un disolvente mixto de acetato de etilo (30 ml) y dimetilsulfóxido (75 ml) a 0 °C, y la mezcla se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se añadió a agua (5 ml) a 0 °C y con ácido clorhídrico 1 N (240 ml). La capa acuosa separada se extrajo con acetato de etilo. Las
 20 capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera sucesivamente, se secaron sulfato sódico anhidro, se concentraron a presión reducida para dar el compuesto del título (14,7 g) que tenía los siguientes datos físicos. TLC : Rf 0,63 (Acetato de Etilo:Hexano =1:1);
 RMN: δ 9,60 (s, 1H), 5,25-5,15 (m, 1H), 4,35-4,20 (m, 1H), 4,13 (c, J = 7,2 Hz, 2H), 2,50-2,35 (m, 2H), 2,35-2,20 (m, 1H), 2,00-1,85 (m, 1H), 1,43 (s, 9H), 1,27 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

25

Ejemplo de Referencia 15

Éster etílico del ácido (4R,5E)-4-t-butoxicarbonilamino-7-oxo-8-(4-fluorofenil)oct-5-enoico



30

- En una atmósfera de argón, a una solución de hidruro sódico (2,40 g, 62,6% en aceite), en tetrahidrofurano (620 ml), una solución de éster dimetilico del ácido 3-(4-fluorofenil)-2-oxopropilfosfónico (17,7 g) en tetrahidrofurano (100 ml) se le añadió a 0 °C y la mezcla se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se añadió a la solución del
 35 compuesto preparada en el Ejemplo de Referencia 14 (14,7 g) en tetrahidrofurano (80 ml) a 0 °C y la mezcla se agitó durante 20 minutos. La mezcla de reacción se añadió con t-butil metil éter (800 ml) y agua (800 ml). La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título en bruto (25,3 g). Se purificó 1 g del compuesto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo:hexano = 1:3) para dar el compuesto del título (636 mg) que tenía los
 40 siguientes datos físicos.

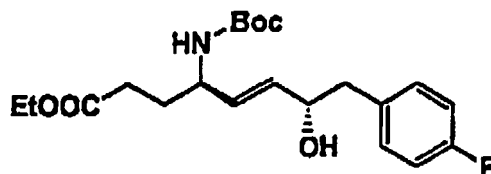
40

TLC : Rf 0,74 (Acetato de Etilo:Hexano =1:1);

RMN : δ 7,20-7,10 (m, 2H), 7,08-6,96(m, 2H). 6,76 (dd, J = 15,3, 5,1 Hz, 1H), 6,24 (d, J = 15,3 Hz, 1H), 4,7-4,6 (m, 1H), 4,4-4,25 (m, 1H), 4,14 (c, J = 7,2 Hz, 2H), 3,82 (s, 2H), 2,38 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,00-1,75 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,25 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Ejemplo de Referencia 16

Éster etílico del ácido (4R,5E,7S)-4-t-butoxicarbonilamino-7-hidroxi-8-(4-fluorofenil)oct-5-enoico



5

A una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 15 (5,56 g) y una solución de (R)-2-metil-CBS-oxazaborolidina (4,3 ml; solución 1,0 M de tolueno) en tetrahidrofurano seco (30 ml), se le añadió complejo borano-tetrahidrofurano (8,6 ml; 1,0 M) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. A la mezcla, se le añadió metanol y se diluyó con acetato de etilo. La solución diluida se lavó sucesivamente con ácido clorhídrico 1 N, agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título que tenía los siguientes datos físicos.

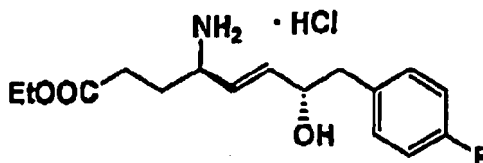
TLC : Rf 0,80 (Acetato de Etilo);

RMN: δ 7,20-7,09 (m, 2H), 7,02-6,93 (m, 2H), 5,67 (dd, J = 15,6, 5,7 Hz, 1H), 5,52 (dd, J = 15,6, 6,0 Hz, 1H), 4,56-4,43 (a, 1H), 4,35-4,27 (m, 1H), 4,20-4,05 (m, 3H), 2,85-2,68 (m, 2H), 2,30 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 1,90-1,70 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,26 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

15

Ejemplo de Referencia 17

20 Clorhidrato del ácido (4R,5E,7S)-4-Amino-7-hidroxi-8-(4-fluorofenil)oct-5-enoico



25

A una solución del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 16 en etanol (12 ml), se le añadió una solución 4 N de cloruro de hidrógeno-dioxano (14 ml) a 0 °C y la mezcla se agitó durante 4 horas. La mezcla se concentró a presión reducida. El producto en bruto obtenido se disolvió en acetato de etilo (25 ml) con calentamiento y después se enfrió a temperatura ambiente durante una noche. El precipitado se filtró, se lavó con acetato de etilo frío y se secó para dar el compuesto del título (2,37 g) que tenía los siguientes datos físicos.

TLC : Rf 0,05 (Acetato de Etilo);

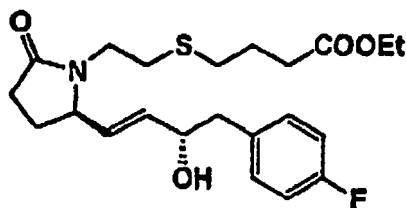
30 RMN(CD₃OD): δ 7,28-7,19 (m, 2H), 7,04-6,93 (m, 2H), 5,92 (dd, J = 15,6, 4,8 Hz, 1H), 5,53 (dd, J = 15,6, 8,7 Hz, 1H), 4,41 -4,32 (m, 1H), 4,15 (c, J = 7,2 Hz, 2H), 3,80-3,70 (m, 1H), 2,81 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 2,28 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,09-1,97 (m, 1H), 1,84-1,75 (m, 1H), 1,24 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

30

Ejemplo de Referencia 18

35

Éster etílico del ácido (15 α ,13E)-9-oxo-15-hidroxi-16-(4-fluorofenil)-17,18,19,20-tetranor-5-tia-8-azaprost-13-enoico



40

En una atmósfera de argón, a una solución de éster etílico del ácido 4-(formilmetil)butanoico (1,82 g) en tetrahidrofurano seco (15 ml), se le añadió un compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 17 (2,27 g) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 1,5 horas. Después, se añadió triacetoxiborohidruro sódico (2,91 g) a la mezcla y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo. La solución diluida se lavó sucesivamente con agua, ácido clorhídrico 1 N y salmuera, se secó sobre

sulfato sódico anhidro, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo:metanol = 30:1) para dar el compuesto del título (1,80 g) que tenía los siguientes datos físicos. TLC : Rf 0,33 (Acetato de Etilo).

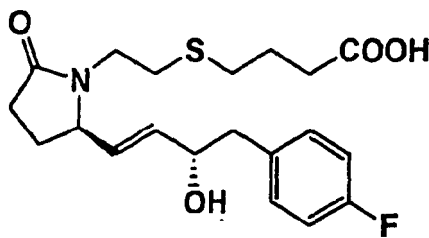
TLC: Rf 0,44 (Cloroformo: Metanol = 9:1);

5 RMN : δ 7,21-7,14 (m, 2H), 7,05-6,96 (m, 2H), 5,75 (dd, J = 15,6, 6,0 Hz, 1H), 5,50 (dd, J = 15,6,8,4 Hz, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,18-4,03 (m, 3H), 3,60 (m, 1H), 2,97 (m, 1H), 2,85-2,79 (m, 2H), 2,70-2,18 (m, 9H), 2,01 -1,82 (m, 3H), 1,79-1,60 (m, 1H), 1,25 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Ejemplo 2

10

Ácido (15 α , 13E)-9-oxo-15-hidroxi-16-(4-fluorofenil)-17,18,19,20-tetranor-5-tia-8-azaprost-13-enoico



15 Mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo de Referencia 7 usando los compuestos preparados en el Ejemplo de Referencia 18 en lugar del compuesto preparado en el Ejemplo de Referencia 6, se obtuvo el compuesto de la presente invención que tenía los siguientes datos físicos.

TLC: Rf 0,38 (Cloroformo:metanol:agua = 9:1:0,1);

20 RMN : δ 7,20-7,16 (m, 2H), 7,04-6,96 (m, 2H), 5,75 (dd, J = 15,4, 6,0 Hz, 1H), 5,50 (ddd, J = 15,4, 8,5, 1,1 Hz, 1H), 4,39 (m, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,82 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 2,67-2,53 (m, 4H), 2,52-2,43 (m, 2H), 2,39 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,22 (m, 1H), 1,94-1,83 (m, 2H), 1,68 (m, 1H).

Ejemplo de Formulación 1: (no se incluye en el ámbito de la presente invención)

25 Los siguientes compuestos se mezclaron de acuerdo con un método convencional y se perforaron para obtener 100 comprimidos conteniendo cada uno 0,5 mg del ingrediente activo.

Ácido (15 α ,13E)-9-Oxo-15-hidroxi-16-(3-metoximetilfenil)-	250 mg
17,18,19,20-tetranor-8-azaprost-13-enoico - α -ciclodextrina	(ingrediente activo 50 mg)
Carboximetilcelulosa de calcio	200 mg
Estearato de magnesio	100 mg
Celulosa microcristalina	9,2 g

Ejemplo de Formulación 2: (no se incluye en el ámbito de la presente invención)

30

Los siguientes compuestos se mezclaron de acuerdo con un método convencional y la solución se esterilizó de acuerdo con un método convencional, se colocaron dosis de 1 ml en ampollas y se liofilizaron de acuerdo con un método convencional para obtener 100 ampollas conteniendo cada una 0,2 mg del ingrediente activo.

Ácido (15 α ,13E)-9-Oxo-15-hidroxi-16-(3-metoximetilfenil)-	100 mg
17,18,19,20-tetranor-8-azaprost-13-enoico - α -ciclodextrina	(ingrediente activo 20 mg)
Manitol	5 g
Agua destilada	100 ml

35

Ejemplo de Formulación 3:

40 Se preparó copolímero de polilactato-glicolato (abreviado PLGA) (polilactato:glicolato = 1:1(mol %), peso molecular promedio en peso 80.000, 90 mg, Mitsui chemical Co, Ltd.) y solución del compuesto de la presente invención (10 mg) en cloruro de metileno (3 ml). Para preparar una emulsión de O/W, la solución preparada anteriormente se añadió a una solución (300 ml) de alcohol de polivinilo al 0,1% (Nacalai Tesque) agitada con 6000 rpm usando un mezclador mecánico TK (Tokusyukika, tipo MARK II 2.5), y la mezcla se agitó durante 2 minutos a temperatura ambiente. Esta emulsión de O/W se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente, para volatilizar el cloruro de metileno. Después de solidificarse la capa de aceite, el resto se centrifugó durante 10 minutos con 1000 rpm usando

una centrifugadora (Hitachi, 05PR-22). Después de eliminar el sobrenadante, el resto se dispersó con agua destilada para inyección (35 ml), se centrifugó durante 10 minutos con 1000 rpm usando de nuevo una centrifugadora (dos veces), la muestra se aclaró para eliminar el fármaco libre *etc.* Finalmente, después de eliminar un sobrenadante y de secar un precipitado a presión reducida se preparó la microesfera.

5 **Ensayo de Formulación 1:**

La microesfera preparada en el Ejemplo de Formulación 3 se añadió mediante solución de acetonitrilo que contenía compuesto convencional interno apropiado y se sometió a ultrasonido para disolver. El contenido del compuesto en la solución se determinó mediante el uso de HPLC, después se calculó la proporción de inclusión del compuesto en la microesfera mediante la ecuación mostrada a continuación.

$$15 \quad \text{La proporción de inclusión del compuesto} \\ = \text{Contenido medido} / \text{Contenido teórico multiplicado por 100}$$

15 **Ensayo de Formulación 2:**

La microesfera de preparada en el Ejemplo de Formulación 3 se suspendió en solución salina (se prepararon 10 mg/kg como contenido del compuesto). La suspensión se administró en la región cervical posterior de ratas macho de la cepa SD por inyección subcutánea. Se extrajeron muestras de sangre a intervalos de tiempo regulares después de la administración con anestesia con éter. Después, el plasma separado de la sangre se extrajo en fase sólida y se determinó la concentración usando espectrometría de masas - cromatografía líquida (LC/MS/MS).

25 **Actividad Farmacológica del Compuesto de la Invención:**

Por ejemplo, las actividades farmacológicas del compuesto de la invención se confirmaron en experimentos realizados en un laboratorio usando las células que expresan subtipos de receptores prostanoideos.

30 (i) Experimento para determinar la unión al receptor usando células que expresan subtipos de receptores prostanoideos.

De acuerdo con el método de Sugimoto et al. (J. Biol. Chem., 267, 6463-6466 (1992)), se prepararon células CHO que expresaban subtipos de receptores prostanoideos (EP₁, EP₂, EP_{3α} y EP₄ murino, respectivamente) y se usaron como muestras auténticas de membrana.

35 Se incubó una solución de reacción (200 μl) que contenía la fracción de membrana preparada (0,5 mg/ml) y ³H-PGE₂ a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción finalizó con tampón enfriado con hielo (3 ml), y la mezcla de reacción se filtró mediante succión a través de un filtro de vidrio (GF/B), en el que la unión a ³H-PGE₂ quedó atrapada y la radiactividad de unión se midió por medio de un centelleo líquido.

40 El valor de K_d se obtuvo a partir de representaciones Acatchard [Arm. N.Y. Acad. Sci., 51, 660 (1949)]. La unión específica se obtuvo como la unión en presencia de una cantidad en exceso (2,5 μM) de PGE₂ no marcado. La medición de la inhibición de unión para ³H- PGE₂ con los compuestos de la invención se realizó añadiendo ³H- PGE₂ (2,5 nM) y una serie de concentraciones del compuesto de la invención. En esta reacción, se usó el siguiente tampón en todos los casos.

Tampón: fosfato de potasio 10 mM (pH 6,9), EDTA 1 mM, MgCl₂ 10 mM y NaCl 0,1 M.

La constante de disociación K_i (μM) de cada compuesto se calculó a partir de la siguiente ecuación.

$$50 \quad K_i = CI_{50} / (1 + ([C]/K_d))$$

(ii) Actividad del Agonista del Receptor de EP₄

55 Experimento para medir la actividad de un agonista del receptor de EP₄ con las células que expresan subtipos de receptores prostanoideos.

60 De acuerdo con el método de Nishigaki et al. (FEBS lett., 364, 339-341 (1995)), se prepararon células CHO que expresaban subtipos de receptores de EP₄ de ratón, se inocularon en una microplaca de 24 pocillos a 10⁵ células/pocillo, y se incubaron durante dos 2 días para su uso en el experimento. Cada pocillo se lavó con 500 μl de MEM (medio esencial mínimo), se añadieron 450 μl de un medio de ensayo (MEM que contenía 1 mmol/l de IBMX y BSA al 1%) y se incubó a 37°C durante 10 minutos. Después, se añadieron 50 μl de una solución que contenía PGE₂ solo o PGE₂ y un compuesto del ensayo para iniciar la reacción, que se realizó a 37°C durante 10 minutos y concluyó con la adición de 500 μl de ácido tricloracético enfriado con hielo (10% p/v). La mezcla de reacción se trató una vez por congelación (-80°C) y descongelación, y las células se eliminaron con un raspador y se centrifugaron a

13.000 rpm durante 3 minutos para proporcionar un sobrenadante en el que se determinó la concentración de AMP con un kit de ensayo de AMPc. Es decir, se añadió una solución tampón proporcionada en el kit de ensayo [¹²⁵I] de AMPc (Amersham) a 125 µl del sobrenadante anterior para ser 500 µl, que se mezcló con 1 ml de solución de tri-n-octilamina/cloroformo 0,5 mol/l para eliminar el ácido tricloroacético contenido en la capa de cloroformo. La capa acuosa se midió como una muestra para determinar la cantidad de AMPc contenida en la muestra de acuerdo con el método como se describe en una instrucción proporcionada en el kit de ensayo [¹²⁵I] AMPc.

El efecto agonista (valor CE₅₀) de los compuestos de la invención se determinó calculando la productividad del AMPc al 50% mientras que el efecto máximo de PGE₂ en solitario se consideró como 100%.

Como resultado, se encontró que el compuesto de la invención tenía una actividad significativa y potente como agonista de receptor de EP₄.

(iii) Efecto inhibidor para la Producción de TNF-α

Se inyectó LPS (10 µg/2 ml/kg) a ratas macho SD, a través de la vena de la cola, y después de un intervalo de 90 minutos se extrajo sangre en un estado heparinizado a partir de la vena cava abdominal para preparar el plasma. La cantidad de TNF-α en el plasma se determinó mediante un kit de ELISA (kit de inmunoensayo de TNF-α en rata; Biosource). El compuesto de la invención se disolvió en una cantidad equimolar de 0,02 moles/l de solución de hidróxido de sodio, se diluyó con agua destilada y se proporcionó por vía oral 30 minutos después de la administración de LPS. La concentración a la cual la producción de TNF-α se inhibió al 50% se consideró como la concentración eficaz (CI₅₀) mientras que la concentración de TNF-α en plasma en un grupo de control (tratado con LPS pero sin proporcionar compuesto) fue del 100%. Como resultado, el compuesto de la invención mostró un efecto significativo para la inhibición de la producción de TNF-α.

(iv) Efecto Inhibidor para el Reumatismo Articular Crónico.

(1) Artritis en ratas, inducida por colágeno.

El experimento se realizó de acuerdo con el método de Osterman et al. (Inflamm. Res., 44, 258-263). Se aplicaron por vía intracutánea, 0,1 ml de un agente de inducción (una emulsión preparada añadiendo un volumen igual de solución salina fisiológica y 2 volúmenes equivalentes de adyuvante incompleto de Freund a una solución al 0,3% colágeno de origen bovino de tipo II) a cada uno de los 4 sitios del dorso de una rata de Da/Slc hembra. Después de un intervalo de una semana, el mismo agente de inducción se aplicó adicionalmente por vía intracutánea en la raíz de la cola para inducir artritis. A los 27 días se puntuaron las extremidades respondiendo al grado irritación y edema y el valor 30 se consideró como puntuación completa. El compuesto de la invención se disolvió en una cantidad equimolar de 0,02 moles/l de solución de hidróxido de sodio, se diluyó con agua destilada y se proporcionó por vía oral 3 veces al día a partir del siguiente día de la primera administración del inductor.

Resultado:

En la Tabla 122, se muestra el efecto del compuesto de la invención para la artritis inducida por colágeno en ratas.

Tabla 122

Compuesto	Dosis	Puntuación Artrítica (Media±DT)
Ejemplo 1	vehículo	27,0±1,2
	100 µg/kg	16,3±3,0*
*:p<0,05		

Como resultado, se reconoció una mejora significativa de la afección de artritis e inhibición del aumento del volumen de la extremidad (edema) mediante la administración de los compuestos de la invención en comparación con los de un grupo de control (el agua destilada se proporcionó por vía oral 3 veces al día).

(2) Artritis inducida en ratones, mediante un cóctel de anticuerpos.

Se aplicó un cóctel de anticuerpos contra colágeno de tipo II por vía intravenosa a ratones macho DBA/IJNCrj a una dosis de 2 mg/0,5 ml/ratón. Después de un intervalo de 3 días, se aplicó lipopolisacárido por vía intraperitoneal a una dosis de 25 µg/0,1 ml/ratón para inducir artritis. A los 10 días se puntuaron las extremidades respectivamente en respuesta al grado irritación y edema y el valor 4 se consideró como puntuación completa. El compuesto de la invención se disolvió en una cantidad equimolar de 0,02 moles/l de solución de hidróxido de sodio, se diluyó con agua destilada y se proporcionó por vía oral 3 veces al día 30 minutos antes de la administración del lipopolisacárido.

Como resultado, se reconoció una mejora significativa de la afección de artritis e inhibición del aumento del volumen de la extremidad (edema) mediante la administración de los compuestos de la invención en comparación con los de un grupo de control (el agua destilada se proporcionó por vía oral 3 veces al día).

(v) Efecto sobre la promoción de osteogénesis 1

5 Se usaron ratas SD hembra (de 11 semanas, peso promedio 271 g), 5 ratas por cada grupo. La rata se diseccionó por la parte lateral abdominal con anestesia de pentobarbital para extraer los ovarios y después se suturó. En un grupo simulado, se realizó la incisión y sutura pero no se extrajeron los ovarios.

10 Seis días después de la operación quirúrgica, el compuesto de la invención (disuelto en una cantidad equimolar de 0,02 moles/l de solución de hidróxido de sodio y diluido con agua destilada) se administró por vía oral 3 veces al día durante 2 meses. A los grupos de control y simulado se les proporcionó solución salina fisiológica. Después de finalizar el ensayo, los animales de cada grupo se sacrificaron y se sometieron a autopsia. La densidad ósea de la región esponjosa del hueso del muslo izquierdo se midió por medio de un aparato para medir la densidad ósea del hueso periférico (XCT-960 A, Norland/Stratech).

15 Como resultado, el compuesto de la invención aumentó significativamente la densidad ósea cuando se comparó con un grupo de control (sin administración).

(vi) Efecto sobre la promoción de osteogénesis 2

20 Usando perros beagle/CSK de aproximadamente 6 meses, pudo examinarse el efecto de la promoción de osteogénesis.

25 El compuesto de la invención se disolvió en solución salina fisiológica y se administró por vía oral durante 4 semanas. A un grupo de control se le proporcionó el mismo volumen de solución salina fisiológica. Después de terminar la administración, los perros se sacrificaron, se realizó la autopsia y se midió el área y la densidad del hueso.

(1) Medición del área del hueso

30 El hueso del muslo extraído se fijó con solución de formalina tamponada al 10% y se seccionó en cortes redondos perpendicularmente al eje óseo con 10 mm de anchura en la posición central de 25 mm desde la fosa troclear; la superficie cercana a la epífisis se fotografió con una cámara a determinada distancia y la fotografía se envió a un ordenador para medir la superficie ósea mediante análisis por imagen.

(2) Medición de la densidad del hueso

35 Se realizaron radiografías en vista lateral de la muestra de 1 cm de anchura usada en (1) y se enviaron a un ordenador para medir la dosis de radiación por unidad de área en el área de una determinada anchura para obtener la densidad ósea (sistema de cámara micro enfoque de ampliación por rayos X System μ Fx-1000 (FUJIFILM)).

(vii) Efecto acelerador de curación de fractura ósea 1

45 Esto puede conseguirse de acuerdo con el método de Markel et al. (J. Bone and Joint Surgery, 73A, 914-923, 1991). Usando perros beagle/CSK de aproximadamente 6 meses, se fracturó el fémur y la tibia bajo anestesia y se tomaron periódicamente radiografías durante 3 meses para evaluar el progreso de la curación. De esta manera, el efecto acelerador de curación de fractura ósea pudo evaluarse fácilmente. El compuesto de la invención se administró por vía oral todos los días. A un grupo de control se le proporcionó agua destilada. Cuando se reconoció el efecto acelerador de la curación, se extirpó la tibia y la densidad y resistencia ósea pudieron medirse para una valoración posterior cuantitativa.

(viii) Efecto inhibidor para úlcera gástrica

50 Para inducir úlcera gástrica, se administraron 20 mg/kg de indometacina a ratas SD por vía oral. Después de un intervalo de 6 horas, se extirpó el estómago para medir el área ulcerosa de la mucosa. El compuesto de la invención se administró por vía oral 30 minutos antes de la administración de indometacina. Como resultado, el compuesto de la invención redujo significativamente el área ulcerosa en comparación con el grupo de control (sin administración).

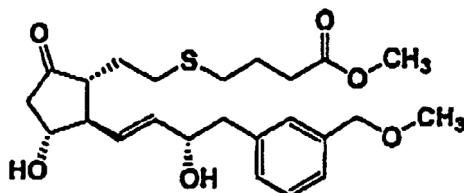
(ix) Efecto acelerador de curación de fractura ósea

60 De acuerdo con los métodos de R. Sakai (Bone, 25, 191-196 (1999)), H. Kawaguchi (Endocrinology. 135. 774-781 (1994)) y T. Hoshino (J. Biomed Mater Res., 51, 229-306 (2000)), se preparó un modelo de fractura ósea con ratas macho IGS de 8 semanas. El pelo de la extremidad trasera izquierda de una rata se rasuró bajo anestesia con pentobarbital Na y Viccilin S 500 (potencia de 500 mg) (Meiji Seika) inyectado por vía intramuscular a una dosis de 10 mg potencia/100 μ l de agua destilada/cuerpo. Después, se seccionó la piel de la fíbula (desde la parte posterior de la articulación de la rodilla al tendón de Aquiles) para eliminar el tejido muscular y exponer la fíbula. La fíbula se seccionó aproximadamente en la posición central para hacer una parte de fractura, que después se restauró a su

estado anterior y la parte seccionada se cerró por sutura con desinfección mediante tinción de yodo/alcohol desinfectante. Después de preparar la parte de fractura y después de cerrar la herida de la cirugía, se añadió una solución salina fisiológica que contenía una microesfera de Tween 80 al 0,2% (que contenía 0,3 mg/kg como un fármaco activo; aproximadamente 60 µl) preparada en el Ejemplo de Formulación 3 solamente una vez. Además, el

5

Compuesto (1).
Como un control comparativo, el compuesto (1) (no se incluye en el ámbito de la presente invención) ácido (11 α , 15 α , 13E)-9-Oxo-11,15-dihidroxi-16-(3-metoximetilfenil)-17,18,19,20-tetranor-5-tiaprost-13-enoico metil éster



10

se infundió de manera continua durante 2 horas dos veces al día a través de un catéter conectado a la arteria carótida. Esto se realizó hasta el último día del experimento. El día 21 del experimento, se realizó la eutanasia de las ratas con CO₂ y el tejido conjuntivo de las extremidades traseras, incluidos músculos, se eliminó para obtener las dos fíbulas. Se hicieron radiografías de las fíbulas extraídas para evaluar el desarrollo de la curación de la fractura basándose en la presencia de una línea de fractura y formación callosa y se midió la densidad y la fuerza del hueso alrededor de la parte de la fractura.

15

(1) Medición de la densidad ósea de la región callosa usando un sistema de cámara micro enfoque de ampliación por rayos X.

20

La densidad ósea de la región callosa en la parte de la fractura de la fíbula extraída se midió en relación con los informes de C. Matsumoto (Calcif Tissue Int, 55, 324-329 (1994)), Kaoru Yamazaki (Nihon Rinsyo, 56, 1464-1468 (1998)), y Keiichi Nakagawa (Sentan Iryo, 4(6), (1996)). Se hicieron radiografías a 4 aumentos usando un sistema de cámara micro enfoque de ampliación por rayos X (FUJIFILM)/placas de formación de imagen (BAS-IP MS 2025; FUJIFILM) en un estado de radiación de tensión de conducto de 40 kV, una corriente de conducto de 100 µA y un tiempo de radiación de 5 segundos. Durante la realización de las fotografías, se estableció a la vez un espectro para análisis cuantitativo de sal ósea para ratones (Kyoto Kagaku Co.) con objeto de preparar una curva analítica para medir la densidad ósea. La imagen se leyó mediante un Analizador Bio formador de imágenes Bays - 1800 (FUJIFILM)/lector de imagen (FUJIFILM) y se procesó con un indicador de imágenes, ver 3.1.12 (FUJIFILM). Basándose en la línea de fractura (superficie) como una región callosa, la región de interés (en lo sucesivo en este documento denominada a veces ROI) se estableció en la posición de 3 mm en la dirección distal (tobillo) y la dirección proximal (rodilla) respectivamente para calcular la densidad ósea de cada ROI a partir de la curva analítica obtenida del espectro para análisis cuantitativo de sal ósea. La densidad ósea de la región callosa en el lado de fractura se calculó a partir de la siguiente ecuación y se representó por media \pm error típico (mg/cm²).

35

$$\text{Densidad ósea en la región callosa} = \frac{\{([\text{densidad ósea en la región callosa proximal}] \times A) + ([\text{densidad ósea en la región callosa distal}] \times B)\}}{(A+B)}$$

40

A representa el área ROI en la región callosa proximal;
B representa el área ROI en la región callosa distal;

(2) Medición de la resistencia ósea mediante un ensayo de inflexión en tres puntos

45

De acuerdo con el informe de T. Hoshino (J Biomed Mater Res., 51, 229-306 (2000)), se realizó un ensayo de inflexión en tres puntos. Usando una Máquina de Ensayo de Material Universal Instron de Tipo 5544 (Instron Japón)/Merlin (Instron Japón; versión 22043), se midió la resistencia de la fractura y la absorción de energía en un estado de 2,5 mm/s de tasa de inflexión y 10 mm de anchura del portamuestras. Los datos de resistencia ósea se calcularon como resistencia relativa del lado no fracturado frente al lado fracturado para los individuos respectivos y representado por media \pm error típico (% de ilesos).

50

(x) Efecto inhibitorio sobre la colitis ulcerosa

55

Se proporcionó libremente una solución acuosa de dextrán sulfato sódico al 7% (en lo sucesivo en este documento abreviado SDS) a ratones macho C57BL/6. Desde el principio de la toma de la solución acuosa, cada dos días se registró el peso corporal y la puntuación clínica. La puntuación clínica se calculó como la suma de la puntuación de diarrea (normal: 0; blanda: 2; diarrea: 4) y hematoquecia (normal: 2; sangrado: 2; sangrado fuerte: 4). Diez días

después de tomar la solución acuosa de SDS, se extrajo sangre de la vena cava bajo anestesia etérea en presencia de heparina y se midió el valor hematocrito mediante un hematocitómetro. Durante un periodo de 0 a 10 días después de tomar la solución acuosa de SDS, el compuesto de la invención se administró por vía oral dos veces al día a una dosis de 10, 30, 100 o 300 $\mu\text{g}/10\text{ml}/\text{kg}$. Como resultado, el compuesto de la invención mostró un efecto inhibitorio significativo sobre la colitis ulcerosa.

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto del ácido (15 α ,13E)-9-oxo-15-hidroxi-16-(4-fluorofenil)-17,18,19,20-tetranor-5-tia-8-azaprost-13-enoico y o una sal no tóxica del mismo, o un caltrato de ciclodextrina del mismo.
- 5 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es el ácido (15 α ,13E)-9-oxo-15-hidroxi-16-(4-fluorofenil)-17, 18, 19, 20-tetranor-5-tia-8-azaprost-13-enoico.
3. Composición farmacéutica que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2.
- 10 4. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, que es una formulación de liberación prolongada.
5. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la formulación de liberación prolongada es una microesfera, una microcápsula, una nanoesfera o una película.
- 15 6. El uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de reumatismo articular crónico.