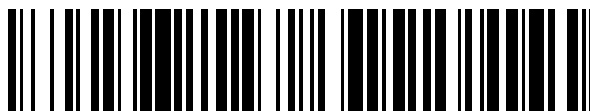


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 650**

51 Int. Cl.:  
**C07F 9/6578** (2006.01)  
**C07D 339/04** (2006.01)  
**A61K 31/16** (2006.01)  
**A61K 31/27** (2006.01)  
**A61K 31/255** (2006.01)  
**C07C 333/02** (2006.01)  
**C07C 327/40** (2006.01)  
**C07C 321/14** (2006.01)  
**A61K 31/325** (2006.01)  
**A61P 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06721742 .2**  
96 Fecha de presentación: **31.03.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1883645**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.02.2008**

54 Título: **DERIVADOS DE ÁCIDO 4 O 5-AMINOSALICÍLICO.**

30 Prioridad:  
**27.05.2005 WO PCT/CA2005/000819**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.11.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.11.2011**

73 Titular/es:  
**Antibe Therapeutics Inc.**  
**McMaster University 1200 Main Street West, HSC-3N8**  
**Hamilton, ON L8N 3Z5, CA**

72 Inventor/es:  
**WALLACE, John L.;**  
**SPARATORE, Anna;**  
**CIRINO, Giuseppe;**  
**CALIENDO, Giuseppe;**  
**SANTAGADA, Vincenzo y**  
**FIORUCCI, Stefano**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 368 650 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

Derivados de ácido 4- o 5-aminosalicílico

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a compuestos útiles en el tratamiento de una enfermedad intestinal tal como enteritis (IBD, del inglés, Inflammatory Bowel Disease) o síndrome del intestino irritable (IBS, del inglés Irritable Bowel Syndrome) y en la quimioprevención del cáncer de colon. En particular, se han desarrollado derivados de ácido 4- o 5-aminosalicílico que tienen un resto de liberación de ácido sulfhídrico unido por medio de un enlace azo, éster, anhídrido, tioéster o amida a una molécula de ácido 5- o 4-aminosalicílico.

**Antecedentes de la invención**

- 10 Enteritis (IBD) es el nombre general para enfermedades que causan con inflamación del intestino delgado y del colon (colitis). La colitis ulcerosa es la enteritis más común y afecta a varias partes del tracto gastrointestinal (GI), en particular al tracto GI inferior, y más particularmente al colon y/o recto. Una segunda IBD es la enfermedad de Crohn, que predomina en el intestino delgado (íleo) y en el intestino grueso (colon).

- 15 La colitis ulcerosa puede ser difícil de diagnosticar ya que sus síntomas son similares a los de otros trastornos intestinales y a los de la enfermedad de Crohn. La enfermedad de Crohn se diferencia de la colitis ulcerosa porque causa una inflamación más intensa de la pared intestinal. Normalmente, la enfermedad de Crohn tiene lugar en el intestino delgado, aunque puede ocurrir también en la boca, esófago, estómago, duodeno, intestino grueso, apéndice y ano.

- 20 La colitis ulcerosa puede aparecer en personas de cualquier edad, pero de la manera más frecuente comienza en edades entre 15 y 30, o menos frecuentemente en edades entre 50 y 70. En ocasiones, los niños y los adolescentes desarrollan esta enfermedad. La colitis ulcerosa afecta a hombres y mujeres por igual y parece que afecta a algunas familias.

- 25 También es importante considerar que aproximadamente 5 % de la gente con colitis ulcerosa desarrolla cáncer de colon. El riesgo de contraer cáncer de colon aumenta con la duración y el alcance de la afección al colon. Por ejemplo, si únicamente se ven afectados el colon inferior y el recto, el riesgo de cáncer no es mayor que el normal. Sin embargo, si se ve afectado todo el colon, el riesgo de cáncer puede ser hasta 32 veces mayor que el riesgo normal. De este modo, es posible que fármacos útiles en el tratamiento de IBD puedan resultar útiles en la prevención del cáncer de colon.

- 30 Probablemente la patogénesis de IBD implica interacciones multi-factoriales entre factores genéticos, factores inmunológicos y cuestiones de tipo ambiental. Evidencias recientes sugieren que la activación patológica del sistema inmune mucosal como respuesta a los antígenos es un factor clave en la patogénesis de IBD.

- 35 La presencia del antígeno en el proceso inflamatorio se sigue estrechamente por medio de la generación de citocinas, moléculas de péptido de glucoproteínas de pequeño tamaño, que proporcionan señales para la comunicación entre las diferentes poblaciones celulares que determinan la dirección de la posterior respuesta inflamatoria e inmunológica. Las citocinas pro-inflamatorias incluyen interleucina (IL)-1, IL-6, IL-8 y el factor-alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ). Los macrófagos son la principal fuente de citocinas, siendo las células epiteliales capaces de producir un número de estos factores de péptido.

- 40 Los linfocitos cooperadores (Th) son una fuente importante de citocinas. Los linfocitos Th1, que se asocian con una respuesta inmunológica con mediación celular, producen IL-2, interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) y TNF- $\alpha$ . Un factor de transcripción clave implicado en la regulación de la inflamación, NFkB, que se encuentra implicado de manera específica en la patogénesis de IBD, regula la cantidad de citocinas producida por los linfocitos Th1 (véase Naturah et al., (1996) Nature Med. 2: 998-1004). Los linfocitos Th2 mejoran la síntesis de anticuerpos por parte de los linfocitos B y producen IL-4, IL-5, IL-6 y IL-10.

- 45 Se piensa también que las quimiocinas contribuyen en la patogénesis de colitis. Las quimiocinas son proteínas pro-inflamatorias que participan en las respuestas inmunológica e inflamatoria por medio de quimioatracción y activación de los leucocitos. Por ejemplo, RANTES es una quimiocina C-C que favorece la selección y activación de las células inflamatorias tales como monocitos, linfocitos, mastocitos y eosinófilos. Recientemente, se han observado niveles elevados de RANTES durante la fase crónica de colitis (véase Ajuebor et al. (2001), J. Immunol. 166: 552.558).

- 50 El tratamiento de la colitis ulcerosa depende de la gravedad de la enfermedad. La mayoría de la gente es tratada con medicación. En los casos graves, puede ser necesaria la cirugía para eliminar el colon enfermo del paciente.

El síndrome del intestino irritable (IBS) es un trastorno común y poco comprendido que provoca una variedad de síntomas intestinales incluyendo dolor abdominal, diarrea y/o estreñimiento, hinchazón, aerofagia y cólico. Mientras que estos síntomas pueden estar provocados por una serie de distintas enfermedades intestinales distintas, normalmente IBS se diagnostica únicamente tras la exclusión de un problema más grave. Existe una creciente

evidencia que sugiere el papel de la inflamación en la patogénesis de IBS.

El objetivo de la terapia es inducir y mantener la remisión, y mejorar la calidad de vida de la gente con IBD/IBS. Existen varios tipos de fármacos disponibles.

5 Los aminosalicilatos, que son fármacos que contienen ácido 5-aminosalicílico (5-ASA; mesalina) o ácido 4-aminosalicílico (4-ASA), contribuyen a combatir la inflamación. No obstante, tanto la mesalamina como 4-ASA se puede absorber a medida que pasan a través del tracto GI y pueden afectar de manera negativa a la cantidad de mesalamina que alcanza el tracto GI inferior, particularmente el colon y el recto. De este modo, se han introducido varias formulaciones de mesalamina en un intento de proteger la mesalamina a medida que pasa a través del intestino y del tracto GI superior.

10 Además, se han introducido varios fármacos de mesalamina que pueden contribuir al suministro de mesalamina de forma específica en el colon. De manera general, estos pro-fármacos son absorbidos de manera sencilla en el intestino y en el tracto GI superior y de este modo pueden alcanzar el colon de manera más fácil.

15 La sulfasalazina es una combinación de sulfapiridina y el 5-ASA y se emplea para inducir y mantener la remisión. La sulfasalazina se metaboliza en el cuerpo para formar 5-ASA y sulfapiridina. El componente de sulfapiridina transporta el antiinflamatorio 5-ASA al intestino.

No obstante, la sulfapiridina puede conducir a efectos secundarios, tales como náuseas, vómitos, acidez gástrica, diarrea y dolor de cabeza. Con frecuencia, estos efectos secundarios adversos se atribuyen a la actividad de sulfapiridina en el tracto GI, así como también a la que se absorbe en el sistema.

20 En pacientes que no pueden ser tratados con sulfasalazina, se pueden usar otros agentes 5-ASA tales como olsalazina, ipsalazida y balsalazida, que presentan cada uno de ellos un vehículo diferente y ofrecen menores efectos secundarios. A diferencia de la sulfosalazina, la ruptura de estos compuestos de 5-ASA en el tracto intestinal puede que no de lugar a productos metabólicos no deseados.

25 En general, los compuestos 5-ASA se proporcionan por vía oral, por medio de enema, o en forma de supositorio, dependiendo de la localización de la inflamación en el colon. La mayoría de la gente con colitis ulcerosa suave o moderada es tratada en primer lugar con este grupo de fármacos.

No obstante, en general, esta terapia no puede considerarse óptima, principalmente debido a la escasa potencia del fármaco que provoca también un escaso cumplimiento terapéutico en el paciente.

30 Otros fármacos que se usan son corticoesteroides tales como prednisona, hidrocortisona, budesonida etc. e inmunomoduladores tales como azotioprina y 6-mercaptopurina (6-MP). Estos fármacos pueden causar efectos secundarios tales como hipertensión, mayor riesgo de infecciones, etc.

35 La sulfasalazina, olsalazida y balsalazida son derivados de mesalamina en los que el vehículo que no contiene mesalamina se encuentra unido a la mesalamina por medio de un enlace diazo. Estos pro-fármacos no se absorben de manera sencilla en el intestino y tracto GI superior y de este modo pueden alcanzar el colon, donde son divididos por las azo-reductasas de la microflora del colon para liberar la mesalamina y el excipiente de forma directa en el colon.

40 Otros derivados de mesalamina comprenden un vehículo unido a mesalamina por medio de grupos funcionales carboxílicos o de hidroxilo de la molécula. Entre estos, se ha documentado la preparación de ésteres o amidas con amino ácidos tales como L-serina y L-glicina o la adición de otro compuesto biológico tal como taurina. Estos pro-fármacos basan su actividad en la acción de carboxipeptidasas y aminopeptidasas A para la liberación de mesalamina. (R. Pellicciari et al., (1993) Journal of Medicinal Chemistry, 36, pg. 4201-7).

La mayoría de los restos de vehículo de la técnica anterior unidos a mesalamina son inertes. De este modo, resulta deseable unir restos de vehículo bien a 5-ASA o a 4-ASA, que también son biológicamente activos y útiles en el tratamiento de IBD/IBS.

45 El documento NL 6 400 267 A describe (2,4-dimetoxifenil)[5-(4-metoxifenil)-3-tioxo-3H-1,2-ditio-4-il]-metanona (CAS RN 803-60-1) para su uso como agente fungicida, bactericida, diurético, antitóxico, colerético, estimulador de bilis, antioxidante e insecticida.

50 Carceller et al. Novel Azo Derivatives as Prodrugs of 5-aminoasicylic Acid and Amino Derivatives with Potent Platelet Activating Factor Antagonist Activity, Journal of Medicinal Chemistry, vol. 44, nº. 18, 2001, páginas 3001-3013, describe la síntesis de una serie de compuestos azo capaces de suministrar ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) y un potente factor activador de plaquetas (PAF) antagonista de manera específica en el colon con el fin de tratar la colitis ulcerosa.

### **Sumario de la invención**

En general, el resto que libera ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) que es capaz de liberar H<sub>2</sub>S en tejidos se une por medio de

una enlace azo, éster, anhídrido, tioéster o amida a una molécula de ácido 4- o 5-aminosalicílico (4- o 5-ASA) para formar un derivado de 4- o 5-ASA de la presente invención. Mediante unión covalente del resto que libera H<sub>2</sub>S y 4- ó 5-ASA, los derivados de la presente invención pueden actuar como pro-fármacos que generalmente se absorben menos en el intestino y tracto GI superior y de este modo pueden alcanzar más fácilmente el colon.

5 Las propiedades anti-inflamatorias de 4- y 5-ASA y su uso para el tratamiento de la colitis ulcerosa se encuentran bien documentadas. 4- ó 5-ASA reduce la enteritis, diarrea (frecuencia de deyección), el sangrado rectal y el dolor de estómago. Recientemente también se comprobado que H<sub>2</sub>S puede funcionar como neuromodulador y que ejerce acciones anti-inflamatorias. Además, se ha comprobado que H<sub>2</sub>S modula la nocicepción de la distensión colorectal (véase Distrutti et al., (2005) Evidence That Hydrogen Sulfide Exerts Antinociceptive Effects in the Gastrointestinal Tract by Activating KATP Channels, J. Pharm. And Exp. Ther. 316: 325-335). Finalmente, se ha comprobado que H<sub>2</sub>S es un espasmolítico de los tejidos intestinales (véase Teague, B. et al., (2002) The Smooth Muscle Relaxant effect of Hydrogen Sulfide in Vitro: Evidence for a Physiological Role to Control Intestinal Contractility. Br. J. Pharmacol. 137: 139-145).

10 De manera sorprendente, la unión covalente del resto que libera H<sub>2</sub>S a 4- o 5-ASA mejora la capacidad de liberación de H<sub>2</sub>S del resto de H<sub>2</sub>S en comparación con el resto de H<sub>2</sub>S solo. Esto sugiere que se puede liberar H<sub>2</sub>S por un lado mientras el resto liberador de H<sub>2</sub>S se encuentra unido a 4- o 5-ASA y por otro, después de que el resto liberador de H<sub>2</sub>S se haya separado de 4- o 5-ASA mediante hidrólisis o escisión por parte de varios de los enzimas presentes en el tracto GI para liberar dos principios activos, concretamente, ácido 4- o 5-aminosalicílico y el resto liberador de H<sub>2</sub>S para acción posterior.

15 Los derivados de la presente invención son superiores a 4- o 5-ASA solo, el resto liberador de H<sub>2</sub>S solo y una mezcla de 4- o 5-ASA y resto liberador de H<sub>2</sub>S a la hora de reducir la inflamación, diarrea y hemorragia fecal inadvertida en sujetos que padecen colitis, así como para reducir el dolor visceral asociado a la distensión colorectal. Además, los derivados de la presente invención también reducen los niveles de mRNA de ciclooxigenasa (COX)-1, COX-2, que constituyen la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) y NOS inducible (iNOS), enzimas que se piensa se encuentran involucradas en la inflamación.

20 De este modo, en un aspecto de la invención, los derivados de la presente invención son útiles para tratar una afección inflamatoria del tracto gastrointestinal (GI), tal como enteritis (IBD) y síndrome del intestino irritable (IBS). Sin pretender vincularse a teoría alguna, se piensa que el ácido sulfhídrico liberado por el resto liberador de ácido sulfhídrico ejerce efectos anti-inflamatorios por medio de la inhibición de NFκB, el factor de transcripción que regula la expresión de varios genes pro-inflamatorios. Además, se piensa que los efectos antinociceptores de H<sub>2</sub>S pueden incluir canales ATP-sensibles K<sup>+</sup> (K<sub>ATP</sub>).

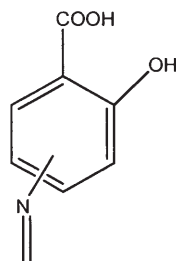
25 En otro aspecto de la invención, los derivados 4- o 5-ASA de la presente invención son eficaces para hacer disminuir la viabilidad de células cancerígenas de colon humano HT-29 y de este modo son útiles en la prevención y/o tratamiento del cáncer de colon.

35 Los compuestos de la invención presentan la siguiente fórmula general:

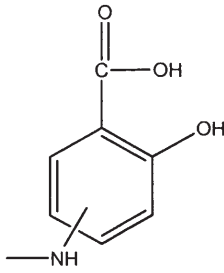


en la que:

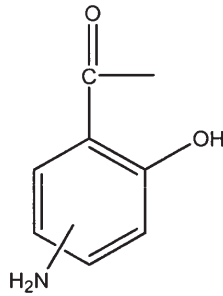
A es



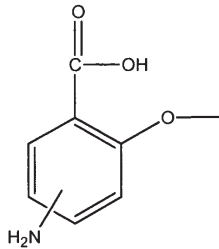
40 en la que -N= se encuentra bien en posición 4 ó 5,



en la que -NH= se encuentra bien en posición 4 ó 5,



en la que -NH<sub>2</sub> se encuentra bien en posición 4 ó 5, o

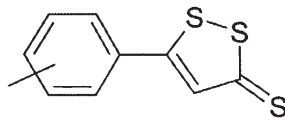


5

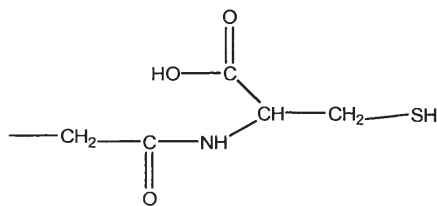
en la que -NH<sub>2</sub> se encuentra bien en posición 4 ó 5;

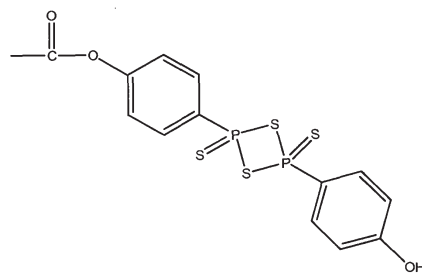
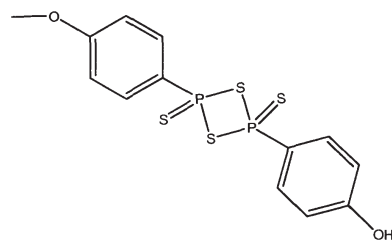
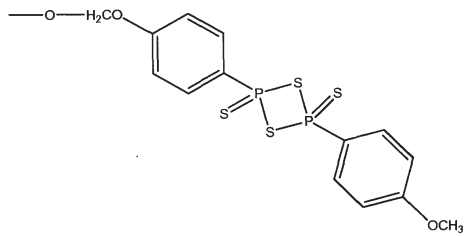
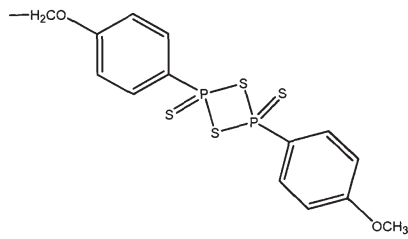
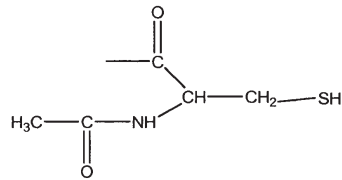
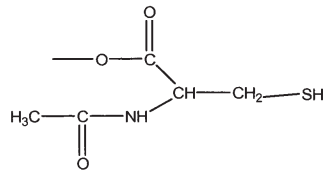
L es O, O-C=O, S, N o un enlace covalente para formar una unión de tipo éster, anhídrido, tioéster, amida o azo; y

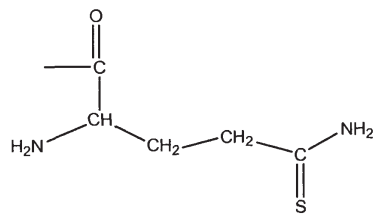
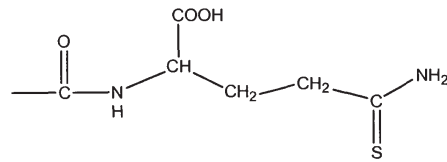
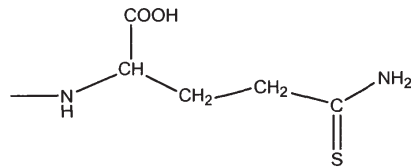
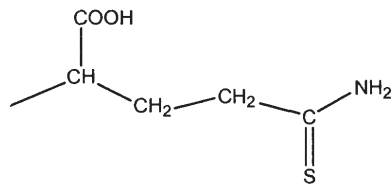
R es un resto liberador de ácido sulfhídrico que se escoge entre el grupo constituido por:



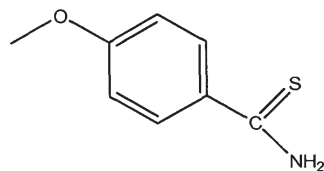
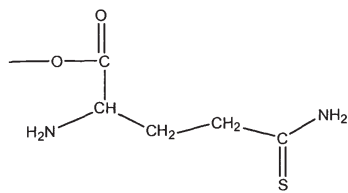
10

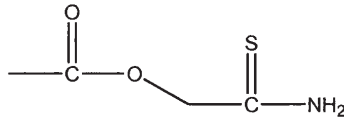
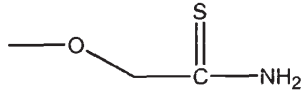
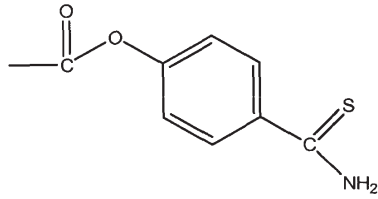






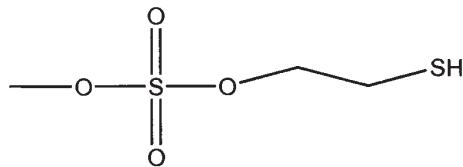
5





5

y



10

Todos los restos anteriores liberan H<sub>2</sub>S en los tejidos biológicos: no obstante, la mayoría de los restos que liberan H<sub>2</sub>S lo hacen por medio de un mecanismo diferente al de N-acetilcisteína. Se sabe bien que la N-acetilcisteína se convierte en cisteína en varios tejidos, y que el metabolismo *in vivo* de cisteína produce H<sub>2</sub>S. El H<sub>2</sub>S se produce principalmente por medio de dos tipos de enzimas dependientes de 5'-fosfato de piridoxal responsables del metabolismo de L-cisteína, concretamente, cistationa-γ-liasa y cistationa-β-sintasa (véase Fujii et al. (2005) Hydrogen Sulfide as an Endogenous Modulator of Biliary Bicarbonate Excretion in the Rat Liver. Antioxid. Redox Signal. 7: 788-794.

15

Las sales farmacéuticas aceptables tales como por ejemplo sales con metales alcalinos y metales alcalino térreos, aminor no tóxicas y amino ácidos también son parte de la presente invención. Sales preferidas son las sales con arginina y agmatina. También se incluyen sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

20

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica de los compuestos de la presente invención, y un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable, en particular uno para su uso en el tratamiento de una afección inflamatoria del tracto GI.

25

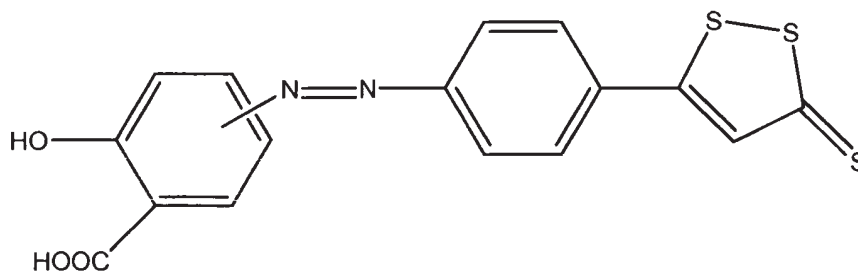
De acuerdo con otras realizaciones de la presente invención, los procedimientos para tratar la afección inflamatoria del tracto GI, tales como enteritis (IBD) y síndrome del intestino irritable (IBS), en un sujeto que precisa dicho tratamiento, incluyen administrar al sujeto una cantidad eficaz de derivados de 4- o 5-ASA y sus sales. Además, se proporcionan procedimientos para el tratamiento o la prevención del cáncer de colon en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar al sujeto una cantidad eficaz de derivados de 4- o 5-ASA y de sus sales.

30

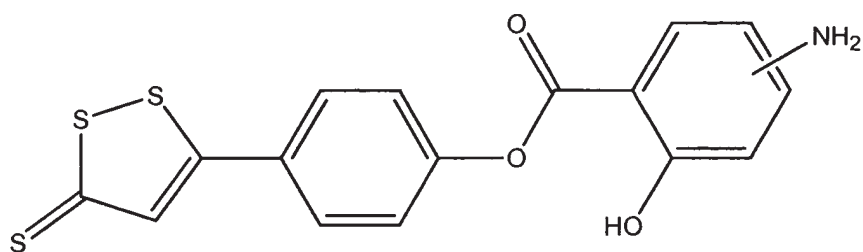
En otra realización, la presente invención proporciona el uso de derivados de 4- o 5-ASA y sus sales de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección inflamatoria del tracto GI. La presente invención también proporciona el uso de derivados de 4- o 5-ASA y sus sales para el tratamiento de una afección inflamatoria del tracto GI.



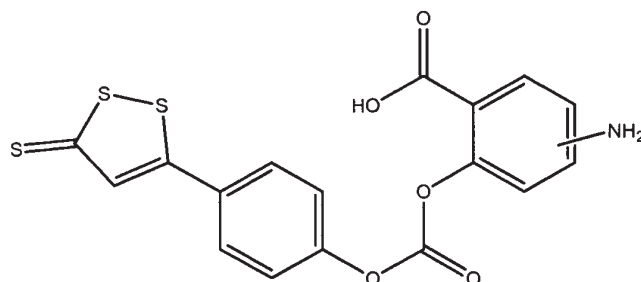
Compuestos preferidos son los de las fórmulas siguientes:



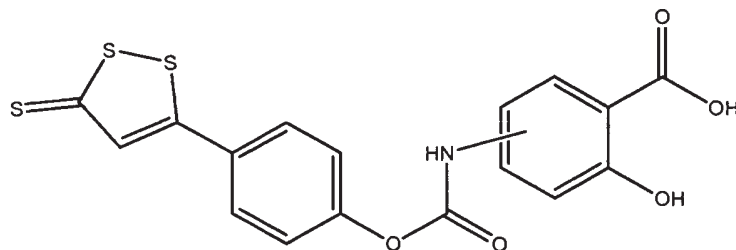
Ácido 2-hidroxi-4- o 5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico (II),



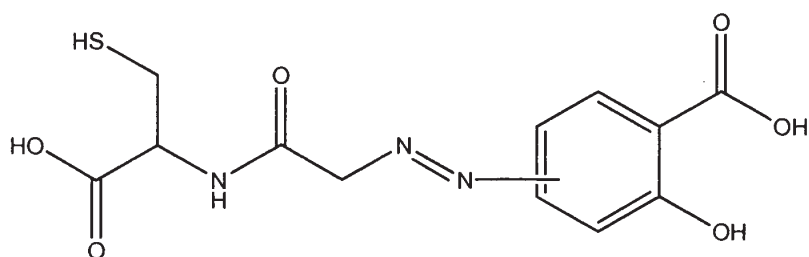
5 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico (III),



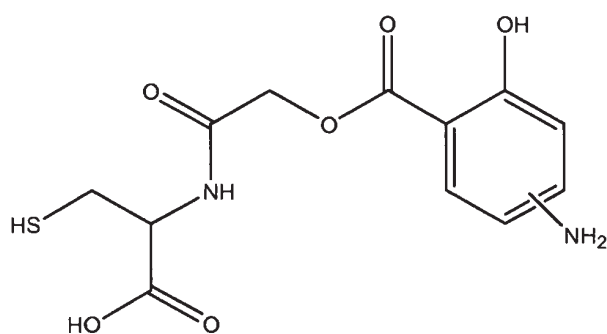
Ácido 4- ó 5-amino-2-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarboniloxi]-benzoico (IV),



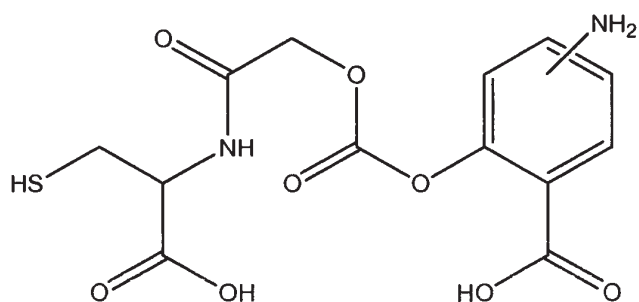
Ácido 2-hidroxi-4 ó 5[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarbonilamino]-benzoico (V),



Ácido 4- ó 5-[[1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metil]-azo)-2-hidroxi-benzoico **(VI)**,

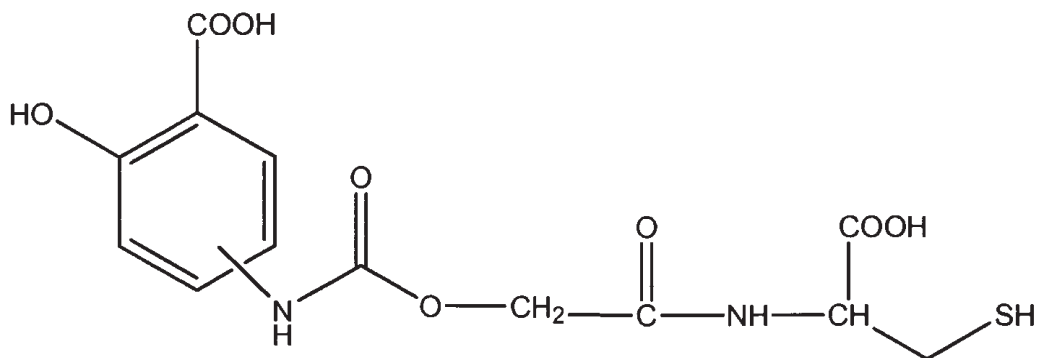


(1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico **(VII)**,



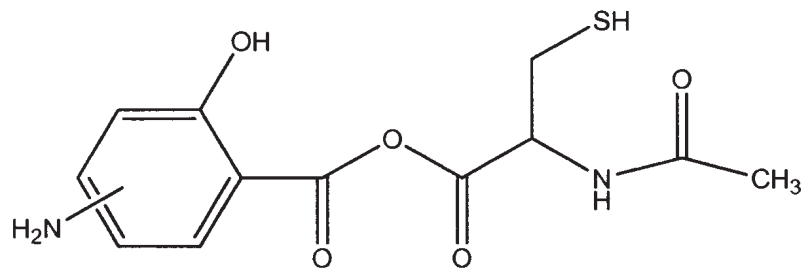
5

Ácido 4- ó 5-amino-2-[(1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metoxicarboniloxi]-benzoico **(VIII)**,

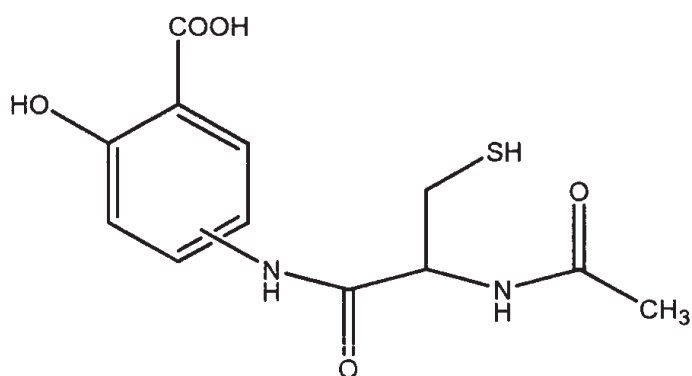


10

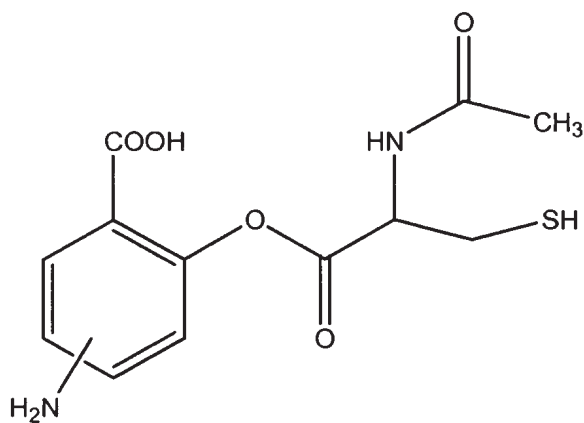
Ácido 4- ó 5- [(1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metoxicarboniamino]-2-hidroxi-benzoico (**IX**),



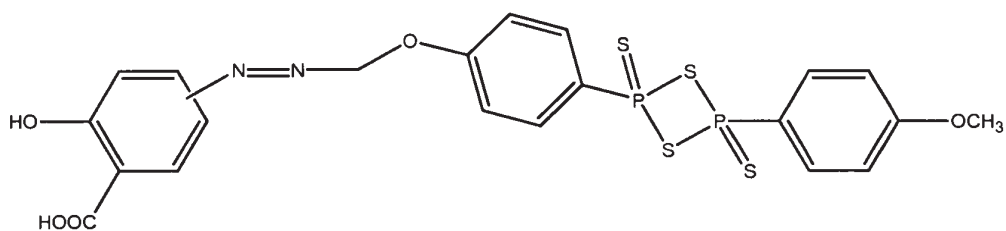
Anhídrido de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico con N-acetilcisteína (**X**),



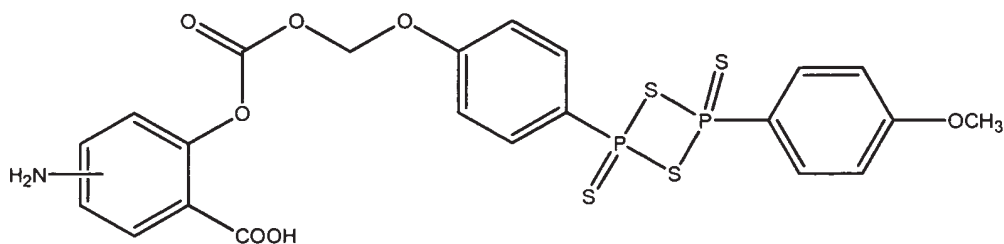
5 Ácido 4- ó 5-(2-acetilamino-3-mercapto-propionilamino)-2-hidroxi-benzoico (**XI**),



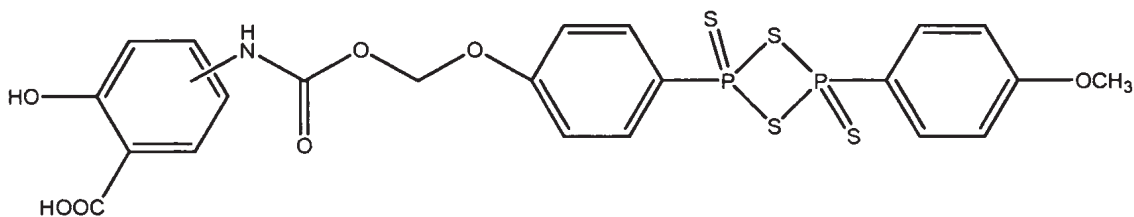
Acido 2-(2-acetilamino-3-mercapto-propioniloxi)-4 ó 5-amino-benzoico (**XII**),



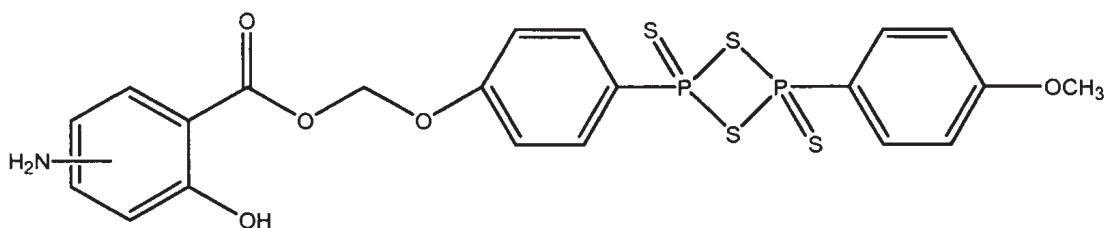
Ácido 2-hidroxi-4 ó 5-((4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,2,3,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxy)metil)-azo)-benzoico (XIII),



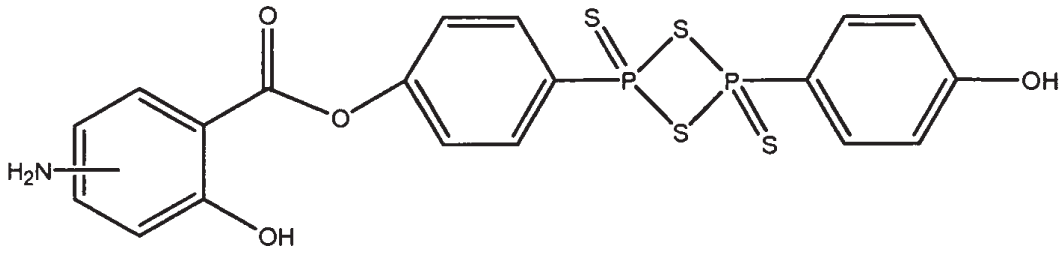
5 Ácido 4 ó 5-amino-2-((4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,2,3,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxy)metoxi)carboniloxi)-benzoico (XIV),



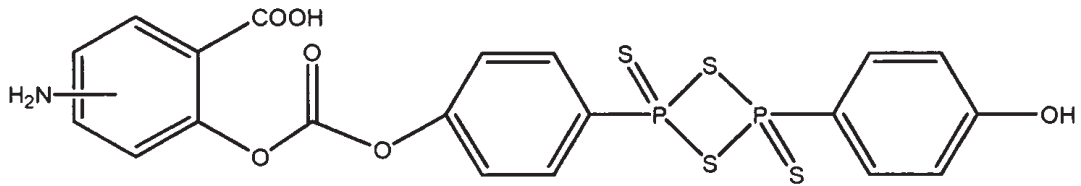
10 Ácido 2-hidroxi-4- ó 5-((4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxy)metoxi)carbonilamino)-benzoico (XV),



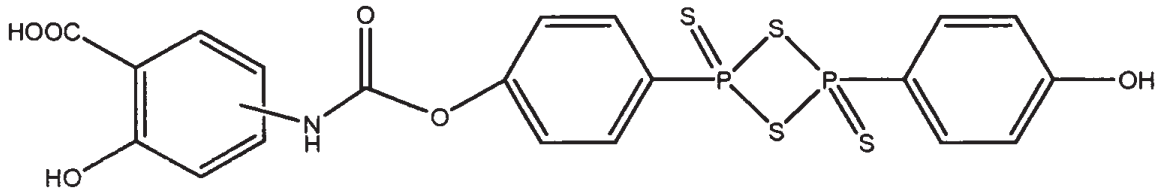
4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxy)metil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi benzoico (XVI),



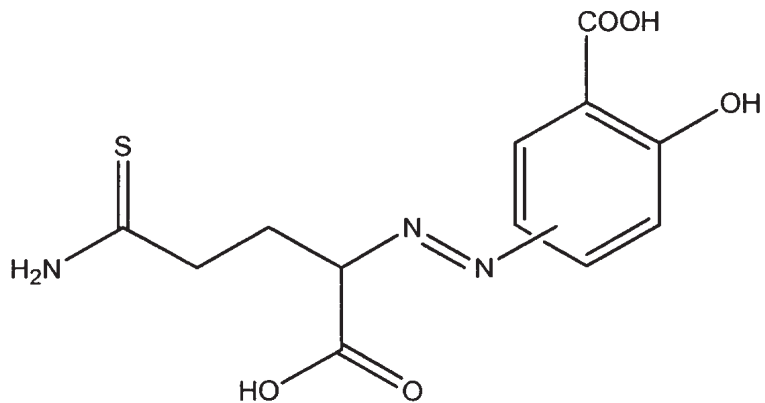
4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi benzoico (**XVII**),



5 Ácido 4- ó 5-amino-2-(4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarboniloxi)-benzoico (**XVIII**),



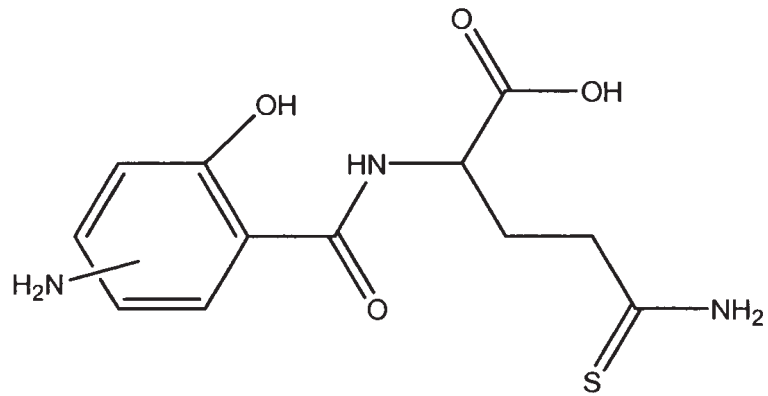
Ácido 2-hidroxi-4- ó 5-(4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarbonilamino)-benzoico (**XIX**),



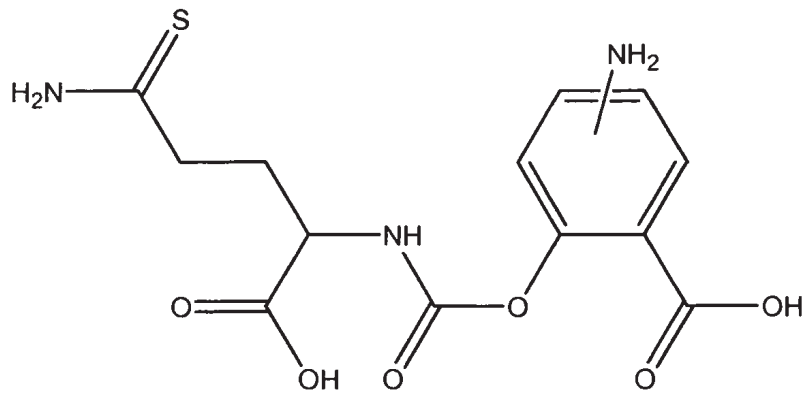
Ácido 4- ó 5-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilazo)-2-hidroxi-benzoico (**XX**),

10

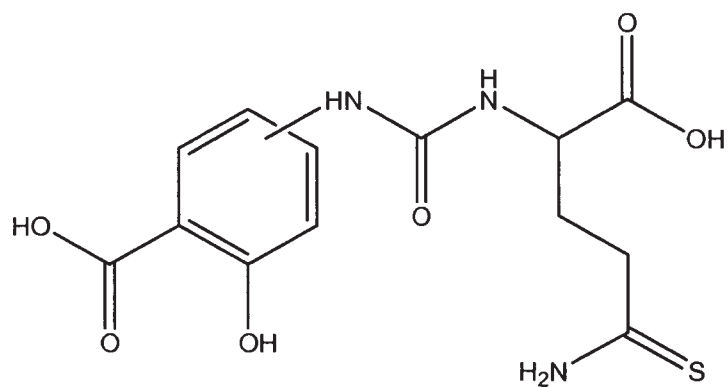
15



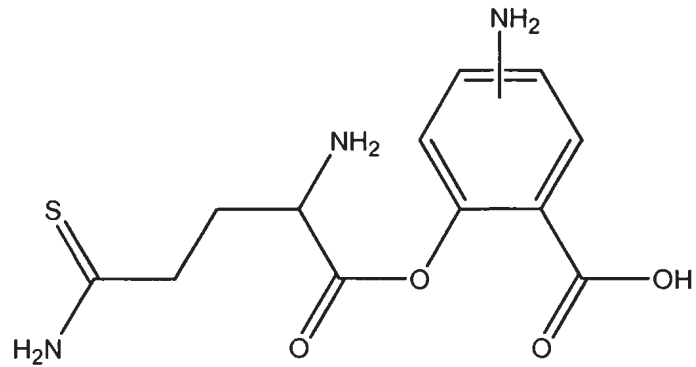
Ácido 2-(4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoilamino)-4-tiocarbamoil-butírico (XXI),



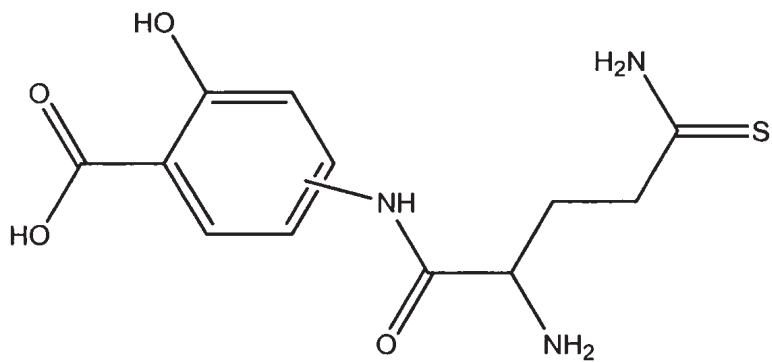
5 Ácido 4- ó 5-amino-2-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilcarbamoiloxi)-benzoico (XXII),



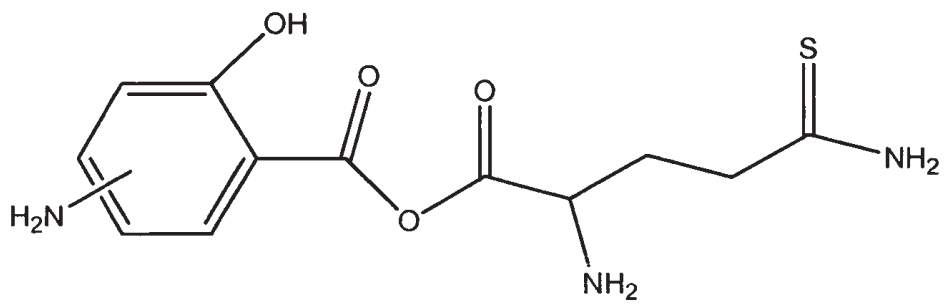
Ácido 2-hidroxi-4- ó 5-[3-(1-hidroximetil-3-tiocarbamoil-propil)-ureido]-benzoico (XXIII),



Ácido 4- o 5-amino-2-(2-amino-4-tiocarbamoil-butiriloxi)-benzoico (XXIV),



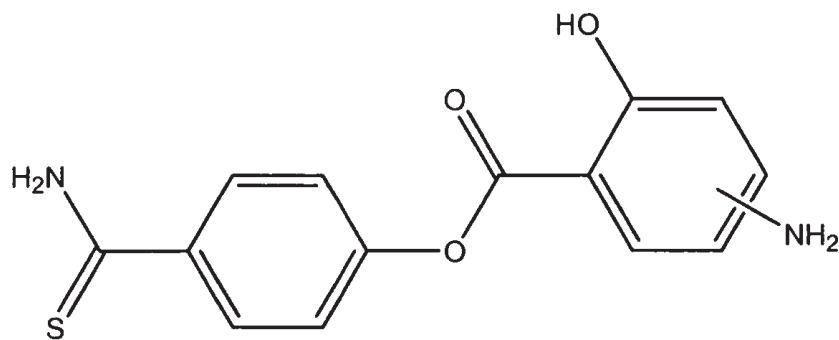
Ácido 4- o 5-(2-amino-4-tiocarbamoil-butirilamino)-2-hidroxi-benzoico (XXV),



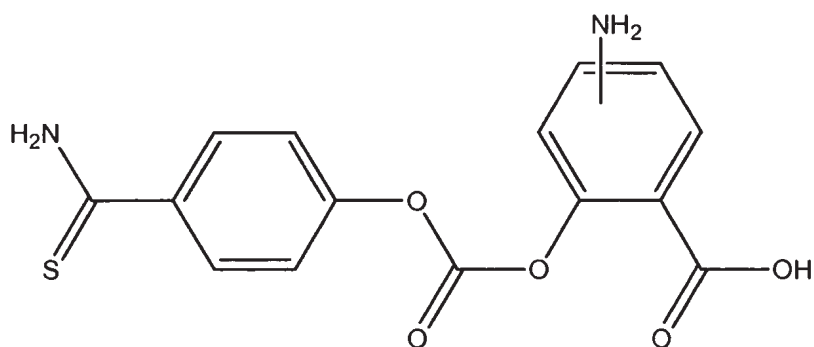
5

Anhídrido de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico con ácido 2-amino-4-tiocarbamoil-butírico (XXVI),

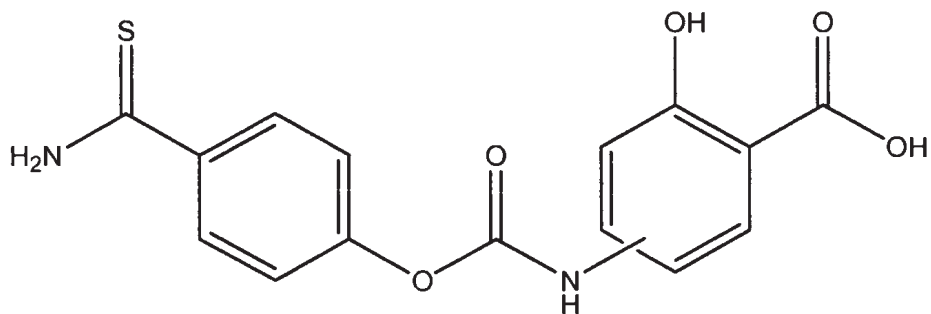
10



4- ó 5-amino-2-hidroxibenzoato de 4-tiocarbamoilfenilo (XXVII),

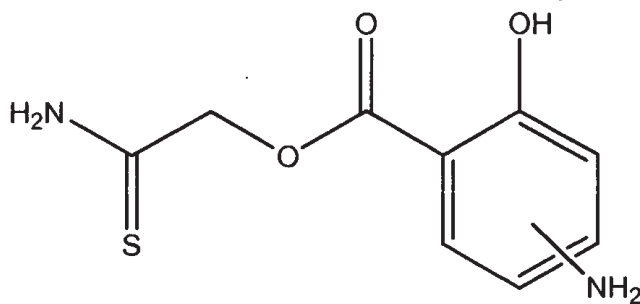


Ácido 4- ó 5-amino-2-(4-tiocarbamoil-fenoxicarbonilo)-benzoico (XXVIII),



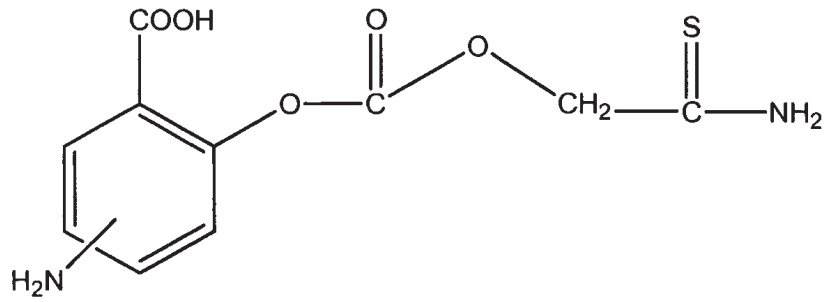
5

Ácido 2-hidroxi-4- ó 5-(4-tiocarbamoil-fenoxicarbonilamino)-benzoico (XXIX),

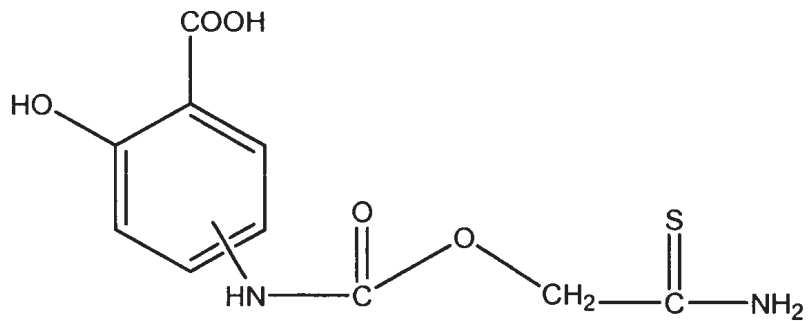


Tiocarbamoilmetil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico (XXX),

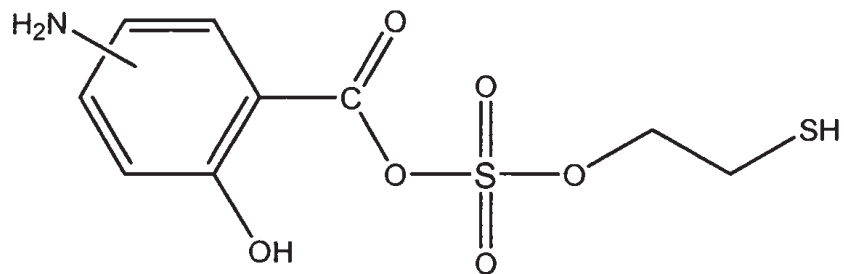




Ácido 4- ó 5-amino-2-tiocarbamoilmetoxycarboniloxy-benzoico (XXXI),

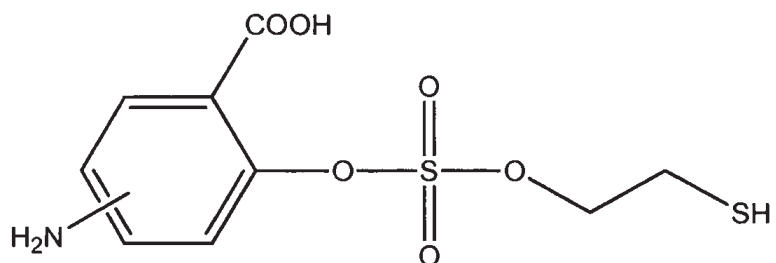


Ácido 2-hidroxi-4- ó 5-tiocarbamoilmetoxycarbonilamino-benzoico (XXXII),



5

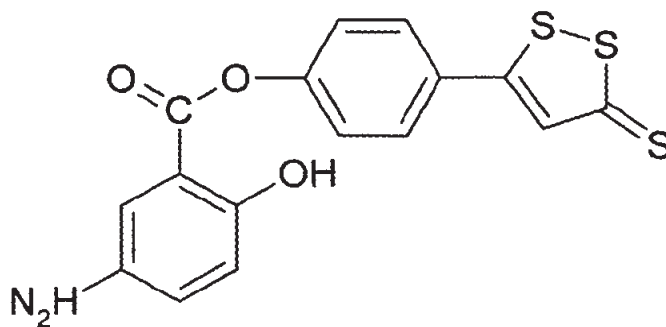
Anhídrido de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico con mono-(2-mercapto-etil)éster de ácido sulfúrico (XXXIII), y



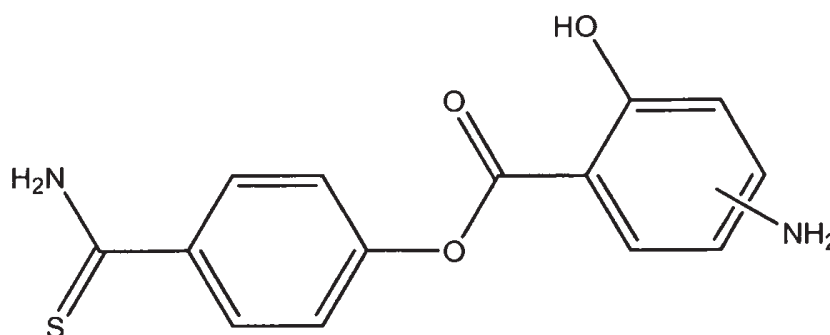
Ácido 4- o 5-amino-2-(2-mercapto-etoxisulfoniloxy)-benzoico (XXXIV).

Los compuestos más preferidos son los siguientes:

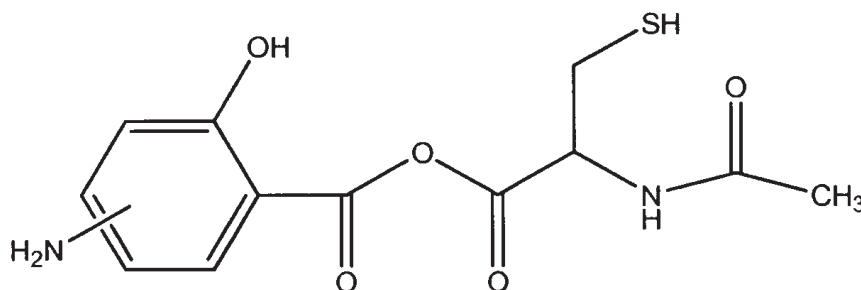
10



4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 5-amino-2-hidroxi-benzoico (XXXV);



4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoato de 4-tiocarbamoilfenilo (XXVII); y



5

Anhídrido de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico con N-acetilcisteina (X).

**Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 muestra la Puntuación de Actividad de Enfermedad de ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con dosificaciones crecientes de mesalamina y del Compuesto XXXV de la presente invención.

10 La Figura 2 muestra la actividad de mieloperoxidasa (MPO) en ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con dosificaciones crecientes de mesalamina y del Compuesto XXXV de la presente invención.

La Figura 3 muestra la Puntuación de Actividad de Enfermedad de ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con el Compuesto XXXV, mesalamina sola, 5-p-hidroxifenil-1,2-ditiona-3-tiona (ADT-OH) sola y una mezcla de mesalamina y ADT-OH.

15 La Figura 4 muestra la actividad de mieloperoxidasa (MPO) en ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con el Compuesto XXXV, mesalamina sola, ADT-OH sola y una mezcla de mesalamina y ADT-OH.

La Figura 5 muestra la Puntuación de Evaluación de la Enfermedad de ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con el Compuesto XXVII, mesalamina sola, 4-hidroxitiobenzamida (4-HTB) sola y una mezcla de

mesalamina y 4-HTB.

La Figura 6 muestra la actividad de mieloperoxidasa (MPO) en ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con el Compuesto XXVII, mesalamina sola, 4-HTB sola y una mezcla de mesalamina y 4-HTB.

5 La Figura 7 muestra la actividad de mieloperoxidasa (MPO) en ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

La Figura 8 muestra la Puntuación de Evaluación de la Enfermedad de ratones que tienen colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con un vehículo (CMC 1 %), 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

10 La Figura 9 muestra la expresión de ARNm del factor de necrosis tumoral colónica (TNF- $\alpha$ ) en ratones con colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con un vehículo (CMC 1 %), 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

15 La Figura 10 muestra la expresión de ARNm del interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) en ratones con colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con un vehículo (CMC 1 %), 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

La Figura 11 muestra la expresión de ARNm de varias interleucinas (IL), concretamente ARNm IL-1, -2, 10 y -12, en ratones con colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con un vehículo (CMC 1 %), 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

20 La Figura 12 muestra niveles colónicos de ARNm RANTES en ratones con colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con un vehículo (CMC 1 %), 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

La Figura 13 muestra la expresión colónica de ARNm COX-1 y COX-2 en ratones con colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con un vehículo (CMC 1 %), 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

25 La Figura 14 muestra la expresión colónica de ARNm eNOS e iNOS en ratones con colitis inducida por TNBS tras el tratamiento con un vehículo (CMC 1 %), 50 mg/kg de mesalamina y una dosificación equimolar del Compuesto XXXV de la presente invención.

Las Figuras 15(a) y (b) muestran la puntuación de la percepción en un modelo de ratas de percepción de dolor visceral usando mesalamina y el Compuesto XXXV, respectivamente, de la presente invención.

30 Las Figuras 16(a) y (b) muestran la presión intrarectal en un modelo de ratas de percepción de dolor visceral usando mesalamina y el Compuesto XXXV, respectivamente, de la presente invención.

La Figura 17 muestra las puntuaciones de percepción del dolor de mesalamina, Compuesto XXXV y Compuesto XXVII con y sin glibenclamida.

35 La Figura 18 muestra las puntuaciones de percepción del dolor del Compuesto XXXV, Compuesto XXVII, mesalamina, ADT-OH y 4-HBT.

La Figura 19 muestra la adherencia de leucocitos como respuesta a la administración intragástrica de aspirina.

La Figura 20 es un gráfico de barras de la adherencia de leucocitos durante el período de tiempo final del experimento (minutos 60-65).

40 La Figura 21 es un gráfico de barras que muestra la generación de H<sub>2</sub>S de cisteína, ADT-OH, Compuesto XXXV, 4-HTB y Compuesto XXVII.

La Figura 22 es una curva de concentración-respuesta que muestra los efectos vasorrelajantes de los restos liberadores de H<sub>2</sub>S de la presente invención.

#### **Breve descripción de la realización preferida**

45 A continuación se describe la invención con respecto a las realizaciones preferidas descritas en el presente documento. Debe apreciarse, no obstante, que estas realizaciones son para los fines de ilustración de la invención, y no se pretende que limiten en modo alguno el alcance de la invención definido por las reivindicaciones.

50 Los compuestos de la presente invención contienen dos restos activos, bien 4- o 5-ASA y un resto liberador de ácido sulfhídrico, unidos por medio de un enlace azo, éster, anhídrido, tioéster o amida. La presencia de enzimas azoreductasa permite la liberación de 4- o 5-ASA de los pro-fármacos con unión azo, permitiendo de este modo un suministro diana al colon y disminuyendo al mismo tiempo la absorción sistémica. De igual forma, la presencia de

carboxipeptidasas y aminopeptidasas A también permite la liberación de 4- o 5-ASA de los pro-fármacos con unión éster o amida, respectivamente. Las esterases y la tioesterases también provocan la ruptura de los enlaces de tipo éster y tioéster, respectivamente. Finalmente, las lipasas rompen los enlaces anhídrido. Los compuestos de la presente invención se pueden preparar usando materiales de partida conocidos y reactivos.

5 Los compuestos de la presente invención se pueden usar para la profilaxis o el tratamiento de varias enfermedades, en particular de trastornos inflamatorios del tracto GI que incluyen, pero no se limitan a, trastornos inflamatorios de la boca tales como mucositis, enfermedades infecciosas (por ejemplo, enfermedades víricas, provocadas por bacterias o fúngicas) y la enfermedad de Crohn; trastornos inflamatorios del esófago tal como esofagitis, trastornos que resultan de lesiones de tipo químico (por ejemplo, la ingestión de lejía), enfermedad de reflujo gastroesofágico, reflujo de ácido biliar, esófago de Barret, enfermedad de Crohn y estenosis esofágica; inflamatorias tales como gastritis (por ejemplo, *Helicobacter pylori*, enfermedad del ácido péptico y gastritis atrófica), enfermedad celíaca, enfermedad de úlcera péptica, lesiones pre-cancerosas del estómago, dispepsia no ulcerosa y enfermedad de Crohn; trastornos inflamatorios del estómago tal como enfermedad de Crohn, hiperdesarrollo bacteriano, enfermedad de úlcera péptica y grietas del intestino; trastornos inflamatorios del colon tal como enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable, colitis infecciosa (por ejemplo, colitis pseudomembranosa tal como colitis de *Clostridium difficile*, enteritis por salmonela, infecciones de sigela, yersiniosis, criptosporidiosis, infecciones microespiridicas e infecciones víricas), colitis inducida por radiación, colitis en hospedador inmunodeficiente (por ejemplo, cecolitis), trastornos precancerígenos del colon (por ejemplo, displasia, trastornos inflamatorios del intestino y pólipos colónicos), proctitis, inflamación asociada a hemorroides, proctalgia fugax y grietas rectales; trastornos de la vesícula biliar y/o del tracto biliar tales como colangitis, colangitis esclerosante, cirrosis biliar idiopática y colecistitis; y absceso intestinal.

Dependiendo del trastorno específico o del estado de la enfermedad a tratar, se puede administrar a los sujetos los compuestos de la presente invención, en cualquier forma farmacéutica segura y terapéuticamente eficaz, como puede determinar de manera sencilla cualquier experto en la técnica. Del modo más deseable, estos compuestos se administran en dosificaciones que varían de aproximadamente 1 a aproximadamente 2000 mg por día, en dosificaciones únicas o divididas, aunque necesariamente tienen lugar variaciones dependiendo del peso y del trastorno del sujeto a tratar así como de la ruta particular de administración que se escoja. No obstante, del modo más deseable, el nivel de dosificación se encuentra dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg, preferentemente entre aproximadamente 5 y 90 mg/kg y más preferentemente entre aproximadamente 5 y 50 mg/kg. No obstante, pueden ocurrir variaciones dependiendo del peso y de los trastornos de las personas objeto de tratamiento y de sus respuestas individuales a dicho medicamento, así como también del tipo de formulación farmacéutica que se escoja y del período de tiempo e intervalo durante el cual se lleve a cabo la administración de dicho medicamento. En algunos casos, niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo anteriormente mencionado puede ser más que adecuados, mientras que en otros casos se pueden emplear dosificaciones incluso mayores sin que ellos suponga provocar efectos secundarios nocivos, con la condición de que dichas dosificaciones mayores se dividan primero en dosificaciones más pequeñas para su administración a lo largo del día.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en forma de cualquier formulación farmacéutica, dependiendo su naturaleza de la vía de administración. Estas composiciones farmacéuticas se pueden preparar por medio de procedimientos convencionales, usando vehículos o excipientes compatibles y farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de tales composiciones incluyen cápsulas, comprimidos, parches transdérmicos, pastillas, tabletas, pulverizaciones, jarabes, polvos, granulados, geles, elixires, supositorios y similares, para la preparación de soluciones extemporáneas, preparaciones inyectables, vía rectal, nasal, ocular, vaginal, etc. Una vía de administración preferida es la ruta oral y rectal.

45 Para administración oral, se pueden emplear comprimidos que contienen varios excipientes tales como celulosa microcristalina, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de dicalcio y glicina, junto con varios desintegrantes tales como almidón (preferentemente almidón de com, patata o tapioca), ácido algínico y determinados silicatos complejos, junto con aglutinantes de granulados como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábiga. De manera adicional, también se pueden usar agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco, con fines de formación de comprimidos. También se pueden usar composiciones sólidas del mismo tipo como rellenos en las cápsulas de gelatina; materiales preferidos a este respecto también incluyen lactosa o azúcar de leche, así como también polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se desean suspensiones acuosas y/o elixires para administración oral, el principio activo se puede combinar con agentes edulcorantes o aromatizantes, materiales colorantes y, si se desea, con agentes de emulsión y/o de suspensión, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y varias de sus combinaciones.

Se puede diseñar la forma farmacéutica para liberación inmediata, liberación controlada, liberación prolongada, liberación retardada o liberación retardada diana. Las definiciones de estas expresiones resultan conocidas para los expertos en la técnica. Además, el perfil de liberación de la forma farmacéutica puede verse afectado por la composición de la mezcla polimérica, la composición de matriz revestida, la composición de multi-partículas, la composición de multi-partículas revestida, la composición basada en resina de intercambio iónico, la composición basada en ósmosis o la composición polimérica biodegradable. Sin pretender quedar ligado a teoría alguna, se piensa que la liberación se puede llevar a cabo por medio de difusión favorable, disolución, erosión, intercambio

iónico, ósmosis o sus combinaciones.

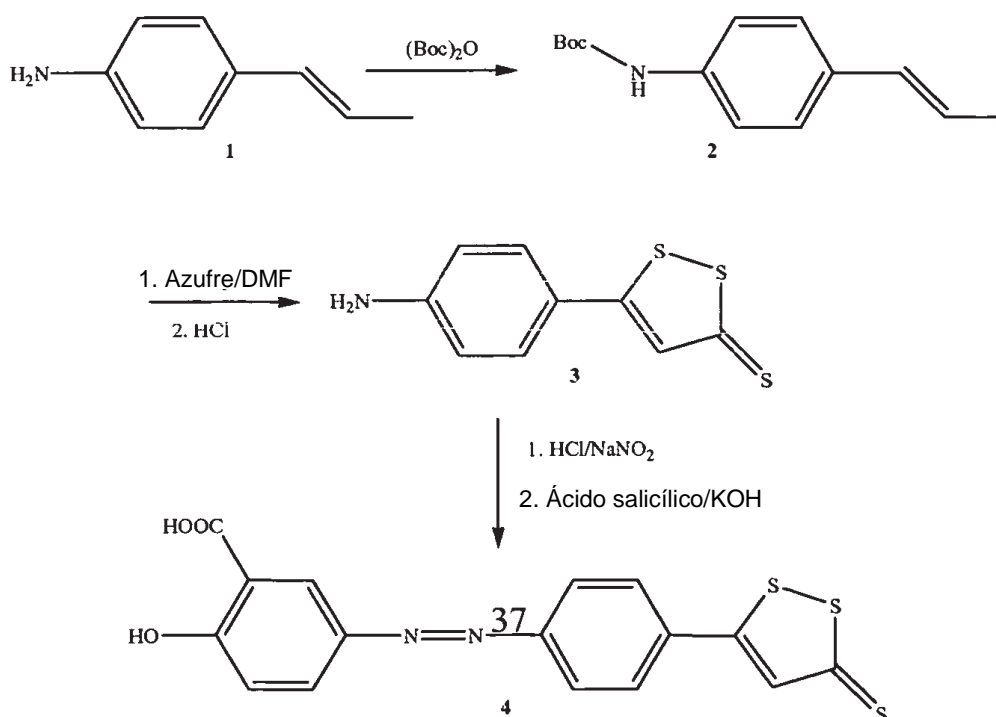
- 5 Para el caso de administración parenteral, se puede emplear una solución de un compuesto activo en aceite de sésamo o en aceite de cacahuete en propilenglicol acuoso. De manera apropiada, la solución acuosa se debe someter a control de tampón (preferentemente pH mayor que 8), si fuese necesario, lo que provoca que el líquido diluyente se vuelva primera isotónico. Las soluciones acuosas resultan apropiadas para inyección intravenosa. La preparación de todas estas soluciones en condiciones estériles se consigue de forma sencilla por medio de técnicas farmacéuticas estándar bien conocidas por los expertos en la técnica.

A continuación, los siguientes ejemplos no limitantes describen más y permiten al experto ordinario en la técnica llevar a cabo y usar la invención.

## 10 Preparación de los compuestos

### Ejemplo 1

#### Síntesis de ácido 2-hidroxi-5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico (4). [Compuesto de fórmula II]



#### Síntesis de terc-butil éster de ácido (4-propenil-fenil)-carbámico (2)

- 15 Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de 4-propenil-fenilamina (1) (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo terc-butil éster de ácido (4-propenil-fenil)-carbámico (2) (90 % de rendimiento).
- 20

#### Síntesis de 5-(4-amino-fenil)-[1,2]ditiol-3-tiona (3)

- Se calentaron terc-butil éster de ácido (4-propenil-fenil)-carbámico (2, 4,5 mmol) y azufre (31,5 mmol) en dimetil formamida (500 ml) durante 8 h; tras la retirada del disolvente, el residuo fue casi completamente soluble en tolueno. Un intento de extracción de los licores de tolueno con hidróxido de sodio acuoso 2N dio lugar a un precipitado de un sólido de color naranja. Este producto se disolvió en agua hirviendo, se trató con ácido clorhídrico 4N durante 30 minutos a temperatura ambiente; la adición de NaOH 4N dio lugar al producto deseado (3) (rendimiento de 55 %).
- 25

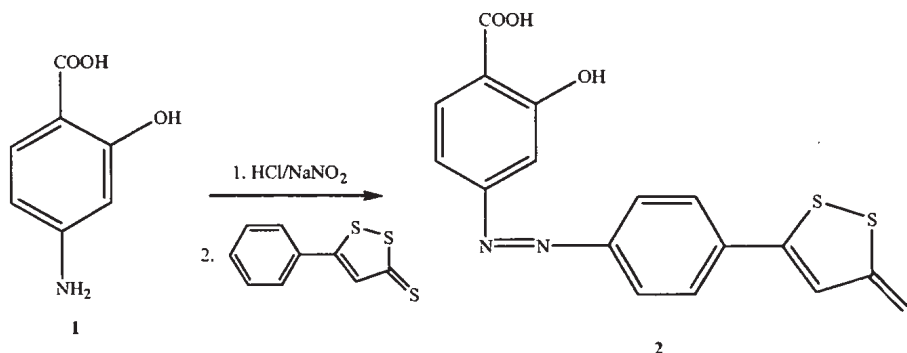
#### Síntesis de ácido 2-hidroxi-5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico (4)

- Se disolvió 5-(4-amino-fenil)-[1,2]ditiol-3-tiona (3, 0,56 mmol) en una mezcla de 5 ml de HCl concentrado y 2,5 ml de agua y se sometió a diazotación con una solución de nitrito de sodio (0,56 mmol). Mientras tanto, se disolvieron ácido salicílico (0,56 mmol), hidróxido de potasio (1,12 mmol) y carbonato de sodio en agua. Se añadió la
- 30

5 suspensión diazo en porciones a la solución alcalina de ácido salicílico y se mantuvo la alcalinidad en un nivel suficientemente elevado durante toda la reacción por medio de la adición de otras cantidades de solución de hidróxido de potasio. Trascorridos 2 días, se calentó la mezcla de reacción durante 30 minutos a 50 °C. Se precipitó el compuesto azo (**4**) por medio de HCl y se filtró (rendimiento de 85 %), para dar lugar al compuesto de fórmula II, ácido 2-hidroxi-5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]-ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico.

**Ejemplo 2**

**Síntesis de ácido 2-hidroxi-4-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico (**2**) [Compuesto de fórmula II]**

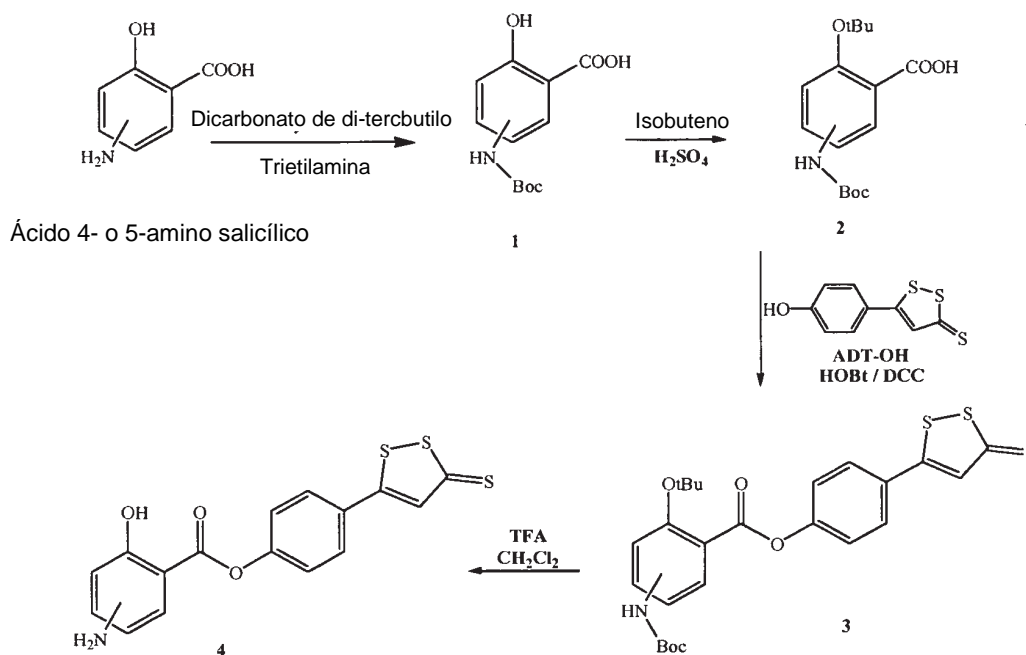


**Síntesis de ácido 2-hidroxi-4-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico (**2**)**

10 Se disolvió ácido 4-amino-2-hidroxi-benzoico (**1**, 1 mmol) en una mezcla de 10 ml de HCl concentrado y 5 ml de agua y se sometió a diazotación con una solución de nitrito de sodio (1 mmol). Se añadió la suspensión diazo en porciones a una solución de 5-fenil-[1,2]ditiol-3-iona (1 mmol) en dimetilformamida. Trascorridos 2 días se calentó la mezcla de reacción durante 30 minutos a 50 °C. Tras enfriar, se precipitó el compuesto azo (**2**) por medio de HCl y se filtró (rendimiento de 65 %), para dar lugar al compuesto de fórmula II, ácido 2-hidroxi-5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico.

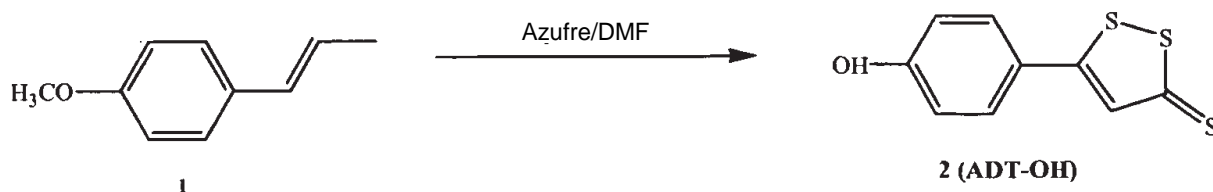
**Ejemplo 3**

**Procedimiento sintético general de 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil-éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico (**4**) [Compuesto de fórmula XXXV]**



**Síntesis de 5-p-hidroxifenil-1,2-ditiona-3-tiona (ADT-OH)**

Se calentaron anetol (**1**) (32,5 g; 0,21 mol) y azufre (45 g; 1,40 mol) en dimetilformamida (250 ml) durante 8 horas; tras la retirada del disolvente, el residuo fue casi completamente soluble en tolueno. Un intento de extraer los licores de tolueno con hidróxido de sodio acuoso 2N dio un precipitado de un sólido de color naranja (8,5 g), p.f. por encima de 300 °C. Se disolvió este producto en agua hirviendo y dio un precipitado de color naranja (**2**) tras la adición de ácido clorhídrico (rendimiento de 50 %), p.f. 188-189 °C. RMN <sup>1</sup>H (DMSO) δ 6,86 (d, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,75 (d, 2H), 10,51 (s, -OH); EM (IEN), m/z 225 (M<sup>+</sup>).

**Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)**

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (**1**) (rendimiento de 80 %).

**Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2)**

Se agitaron el compuesto (**1**) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascas) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (**2**), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

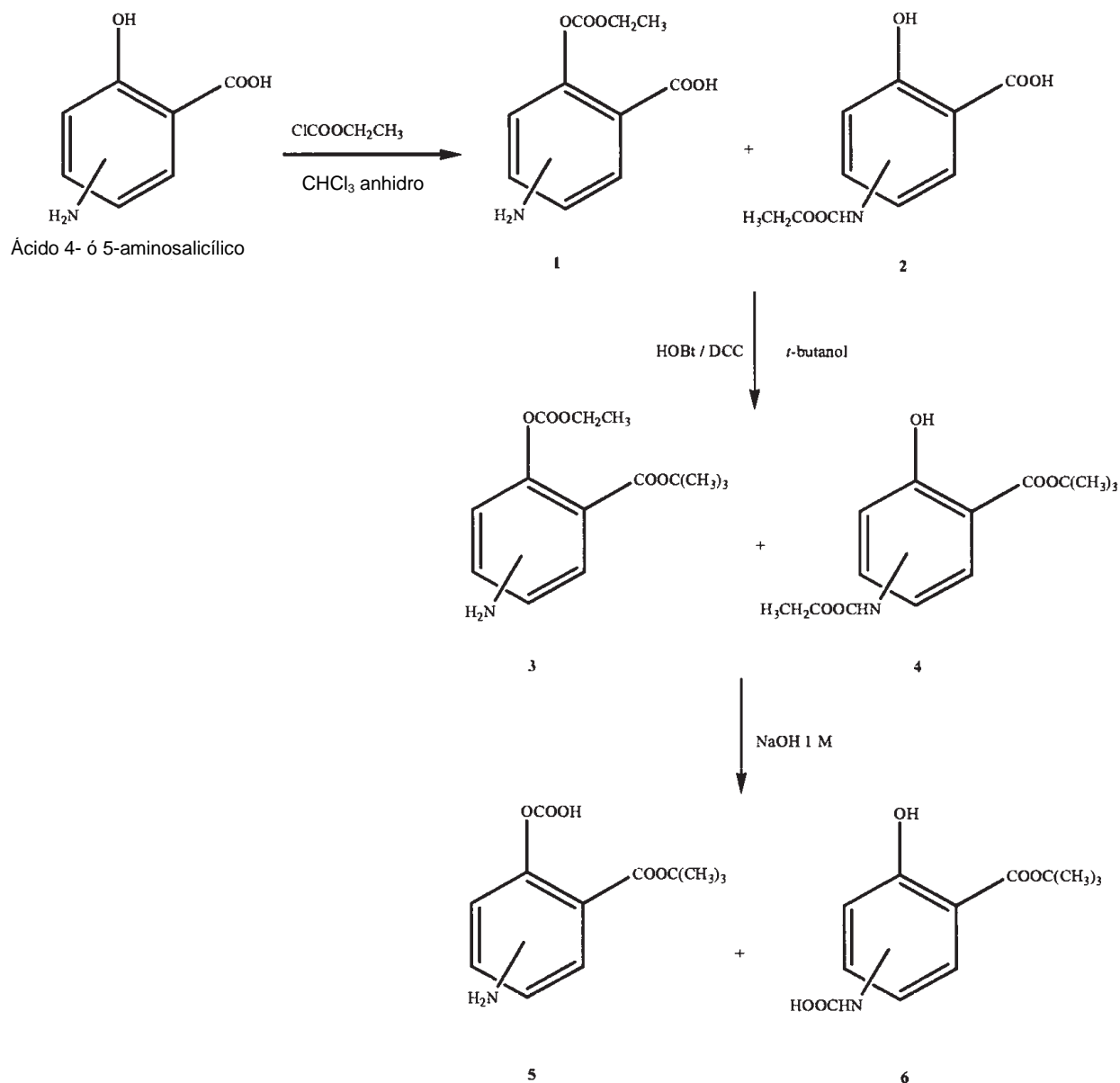
**Síntesis de 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico (4)**

Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (**2**) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió 5-p-hidroxifenil-1,2-dition-3-tiona (ADT-OH) (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (**3**) con una solución de TFA 40 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Transcurridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto 3 en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)fenil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico (**4**) [compuesto de fórmula XXXV] (rendimiento de 40 %).

**Compuesto de 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 5-amino-2-hidroxi-benzoico (4):** RMN <sup>1</sup>H (DMSO) δ 7,07 (d, 2H), 7,38 (d, 2H), 7,46 (d, 2H), 7,79 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,01 (d, 2H), 10,35 (s-, OH); EM (IEN), m/z 362 (M<sup>+</sup>).

**Ejemplo 4**

**Procedimiento sintético general de: hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-aminofenilo (5) ácido 3-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-hidroxifenilcarbámico (6)**



**Síntesis de ácido 4- ó 5-amino-2-etoxicarboniloxi-benzoico (1) y ácido 4- ó 5-etoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (2)**

5 Se disolvió ácido 4- ó 5-aminosalicílico (3,0 mmol) en 40 ml de cloroformo en un matraz de fondo redondo equipado con un tubo de secado. Se añadió de forma gradual cloroformiato de etilo (3,0 mmol) y se sometió la solución a reflujo durante 2 horas. Se evaporó el cloroformo a vacío y se disolvió el residuo en éter. Se decoloró la fase de éter usando carbón vegetal, se filtró y se retiró el disolvente a vacío. Posteriormente, se disolvió el residuo obtenido en etanol y se recuperó el producto por medio de precipitación usando n-hexano como semisólido oleoso puro. Se purificó el producto puro por medio de cromatografía instantánea sobre gel de sílice eluyendo con éter de dietilo/hexano (7:3 v/v), obteniéndose los compuestos de título: ácido 4- ó 5-amino-2-etoxicarboniloxi-benzoico (1: rendimiento de 58 %) y ácido 4- ó 5-etoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (2: rendimiento de 34 %).

**Síntesis de terc-butil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-etoxicarboniloxi-benzoico (3)**

15 Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de (1) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1 h. Se añadió t-butanol (3,0 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo: se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se



introdujo el residuo en una columna de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9,5:0,5), a partir de la cual se obtuvo *terc*-butil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-etoxicarbonilo-benzoico (**3**) (rendimiento de 55 %).

**Síntesis de *terc*-butil éster de ácido 4- ó 5-etoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (**4**)**

5 Se obtuvo el compuesto (**4**) de acuerdo con el procedimiento descrito, obteniéndose el compuesto (**3**). Rendimiento: 74 %.

**Síntesis de hidrogenocarbonato de 2-(*terc*-butoxicarbonil)-4- ó 5 aminofenilo (**5**)**

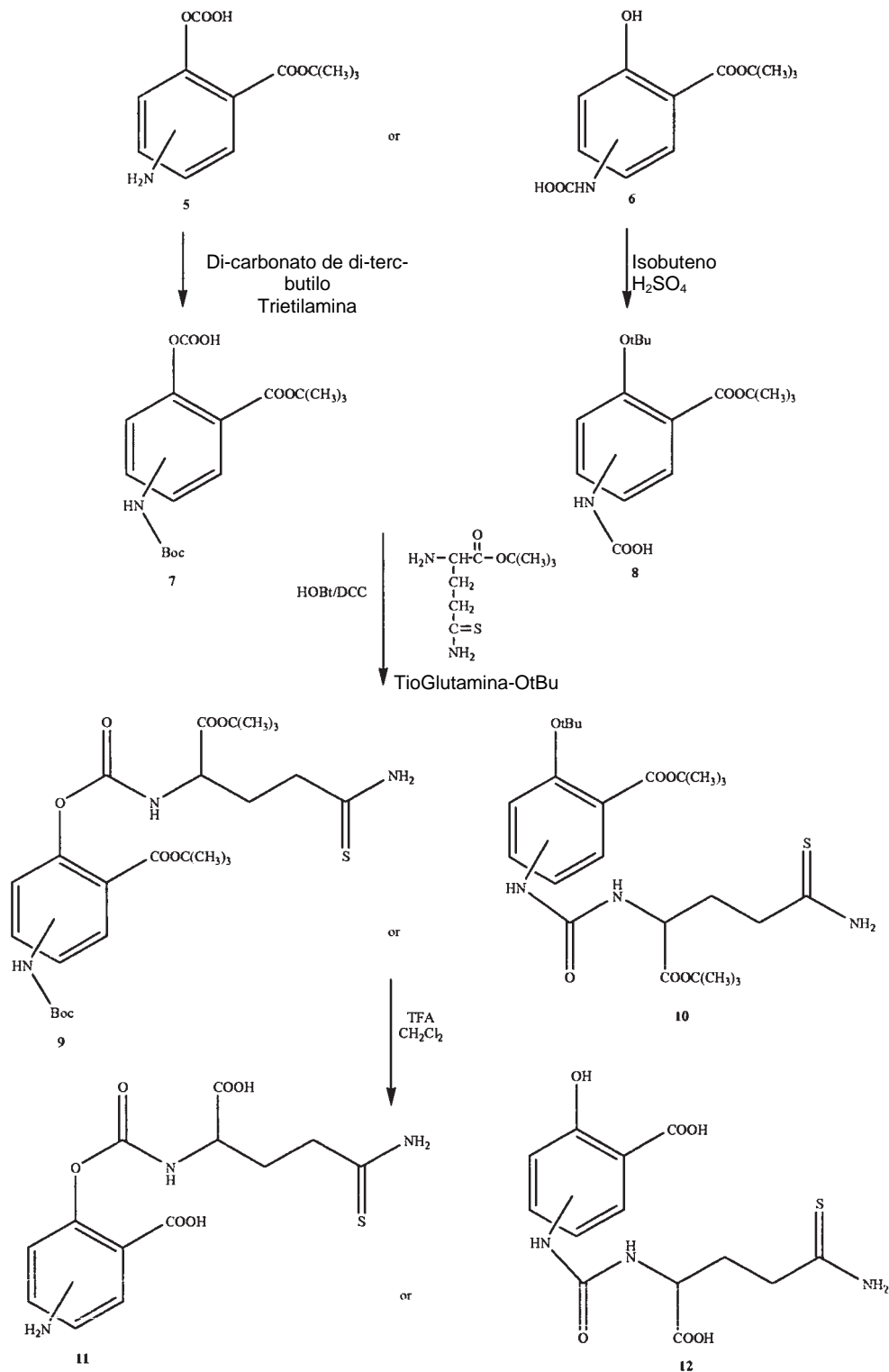
10 Se añadió NaOH 1N (40 ml) a una solución del compuesto (**3**) (3,5 g; 0,011 mol) en etanol (80 ml). Se agitó la mezcla de reacción 2 h a temperatura ambiente. Se neutralizó la solución con HCl 1N. Se retiró el etanol y se llevó a cabo la extracción con acetato de etilo (3 x 150 ml); se lavaron las fases orgánicas con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se evaporó el disolvente. Se obtuvo hidrogenocarbonato de 2-(*terc*-butoxicarbonil)-4- ó 5 aminofenilo (**5**) (3 g; 0,010 mol; rendimiento de 89 %) en forma de sólido de color blanco.

**Síntesis de ácido 3-(*terc*-butoxicarbonil)-4- ó 5-hidroxifenil-carbámico (**6**)**

Se obtuvo el compuesto (**6**) de acuerdo con el procedimiento descrito, obteniéndose el compuesto (**5**). Rendimiento: 91 %.

15 **Ejemplo 5**

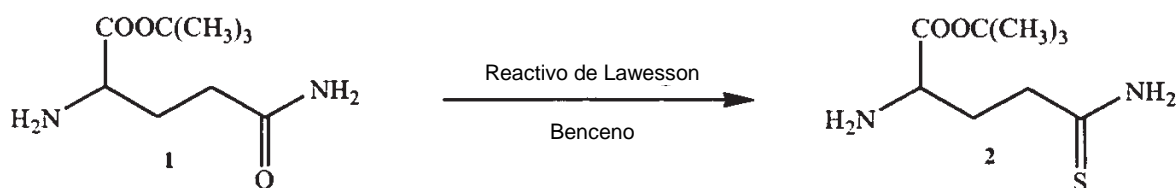
**Procedimiento sintético general de: ácido 4- ó 5-amino-2-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilcarbamoiloxi)-benzoico (11) [Compuesto de Fórmula XXII] ácido 4- ó 5-[3-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propil)-ureido]-2-hidroxi-benzoico (12)**



**Síntesis de 5-tio-L-glutamina-OtBu (2)**

Se añadieron L-glutamina-OtBu · HCl (**1**) (1,2 mmol; 0,3 g) y reactivo de Lawesson (0,75 mmol; 0,3 g) a benceno (20 ml) y se calentó la mezcla a reflujo durante 15 min. Posteriormente, se enfrió la reacción y se evaporó a vacío. Se sometió a cromatografía el producto puro sobre 100 g de gel de sílice y se eluyó con mezclas de acetato de etilo y n-hexano. Se obtuvieron 0,2 g (rendimiento de 76 %) de producto (**2**) en forma de sólido de color blanco: RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,4 (s, 9H), 1,8-2,8 (m, 5H), 4,0-4,8 (m, 3H); EM (IEN), m/z 219 (M<sup>+</sup>).

5



#### Síntesis de hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (7)

5 Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de (5) (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (7) (80 % de rendimiento).

#### Síntesis de ácido 3-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-hidroxifenil-carbámico (8)

10 Se agitaron el compuesto 6 (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascales) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (8), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

#### Síntesis de ácido 4- ó 5-amino-2-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilcarbamoiloxi)-benzoico (11)

20 Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de 7 (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió terc-butil éster de ácido 2-amino-4-tiocarbamoil-butírico (3,0 mmol) y trietilamina (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (9) con una solución de TFA 40 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Trascorridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (11) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- ó 5-amino-2-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilcarbamoiloxi)-benzoico (11) (rendimiento de 40 %), compuesto de fórmula XXII.

#### Síntesis de ácido 4- ó 5-[3-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propil)-ureido]-2-hidroxi-benzoico (12)

Se obtuvo el compuesto (12) de acuerdo con el procedimiento descrito, obteniéndose el compuesto (11). Rendimiento 38 %.

#### 30 Ejemplo 6

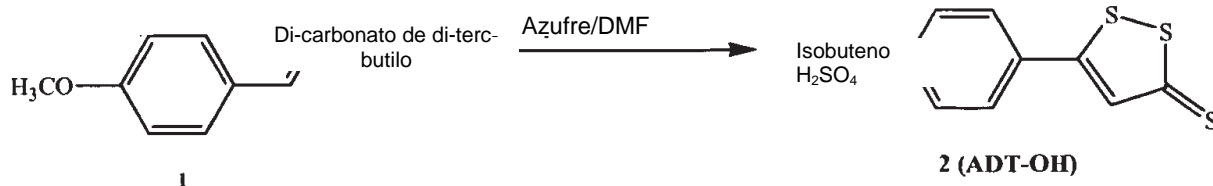
Procedimiento sintético general de: ácido 4- ó 5-amino-2-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarbonilo]-benzoico (15) [Compuesto de Fórmula IV] ácido 2-hidroxi-4 ó 5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarbonilamino]-benzoico (16) [Compuesto de Fórmula V]

35

40

**Síntesis de 5-p-hidroxifenil-1,2-dition-3-tiona (ADT-OH)**

Se calentaron anetol (**1**) (32,5 g; 0,21 mol) y azufre (45 g; 1,40 mol) en dimetilformamida (250 ml) durante 8 horas; tras la retirada del disolvente, el residuo fue casi completamente soluble en tolueno. Un intento de extraer los licores de tolueno con hidróxido de sodio acuoso 2N dio un precipitado de un sólido de color naranja (8,5 g), p.f. por encima de 300 °C. Se disolvió este producto en agua hirviendo y dio un precipitado de color naranja (**2**) tras la adición de ácido clorhídrico (rendimiento de 50 %), p.f. 188-189 °C. RMN <sup>1</sup>H (DMSO) δ 6,86 (d, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,75 (d, 2H), 10,51 (s, -OH); EM (IEN), m/z 225 (M<sup>+</sup>).

**Síntesis de hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (7)**

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de (**5**) (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (**7**) (rendimiento de 80 %).

**Síntesis de ácido 3-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-hidroxifeni-carbámico (8)**

Se agitaron el compuesto (**6**) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobuteno (5 psi o 34,47 kilopascales) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (**8**), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

**Síntesis de ácido 4- o 5-amino-2-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarboniloxi]-benzoico (15)**

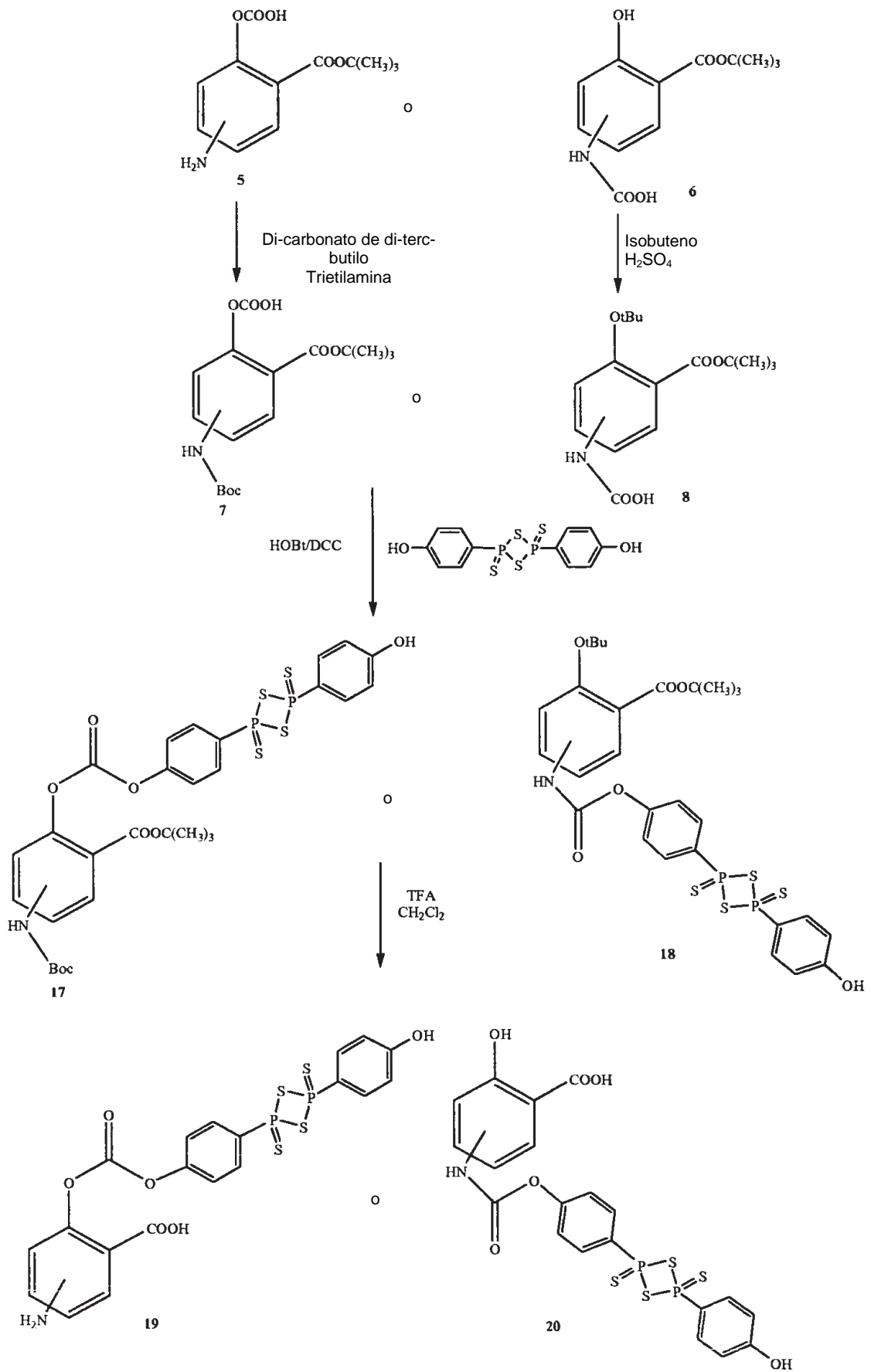
Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de (**7**) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió 5-p-hidroxifenil-1,2-dition-3-tiona (ADT-OH) (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (**13**) con una solución de TFA 40 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Transcurridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (**15**) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-amino-2-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarboniloxi]-benzoico (**15**) (rendimiento de 45 %), compuesto de fórmula IV.

**Síntesis de ácido 2-hidroxi-4- ó 5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarbonilamino]-benzoico (16)**

Se obtuvo el compuesto (**16**), compuesto de Fórmula V, de acuerdo con el procedimiento descrito, obteniéndose el compuesto (**15**). Rendimiento 38 %.

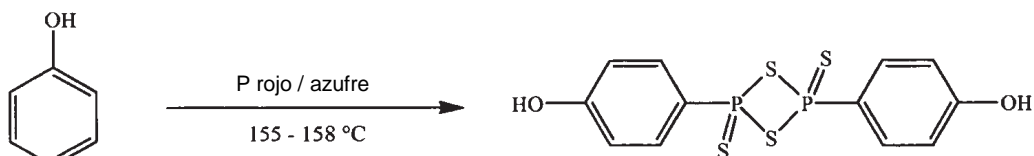
**Ejemplo 7**

**Procedimiento sintético general de: 4- o 5-amino-2-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>-4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarboniloxi]-benzoico (19) [Compuesto de Fórmula XIV] 2-hidroxi-4- ó 5-[4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>-4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarbonilamino]-benzoico (20) [Compuesto de Fórmula XIII]**



**Síntesis de anhídrido (p-hidroxifenil)ditioposfónico**

Se calentaron P rojo (4 g; 0,129 mol), S (4 g, 0,125 mol) y PhOH (4 g; 0,042 mol) durante 5,5 h a 155-158 °C; se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se recogió el precipitado (5,5 g, rendimiento de 34 %). P.f. 224-226 °C. Los análisis de RMN y MS fueron coherentes con el anhídrido p-hidroxifenil ditioposfónico.



5

**Síntesis de hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (7)**

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de (5) (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (7) (rendimiento de 80 %).

10

**Síntesis de ácido 3-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-hidroxifenil-carbámico (8)**

Se agitaron el compuesto (6) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascas) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (8), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

15

**Síntesis de ácido 4- ó 5-amino-2-{4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>-4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]-ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarboniloxi}-benzoico (19)**

Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de (7) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió anhídrido p-hidroxifenilditioposfónico (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (17) con una solución de TFA 40 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Trascorridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (19) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- ó 5-amino-2-{4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>-4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]-ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarboniloxi}-benzoico (19) (rendimiento de 65 %), compuesto de fórmula XIV.

25

30

**Síntesis de ácido 2-hidroxi-4- ó 5-{4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>-4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]-ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarbonilamino}-benzoico (20)**

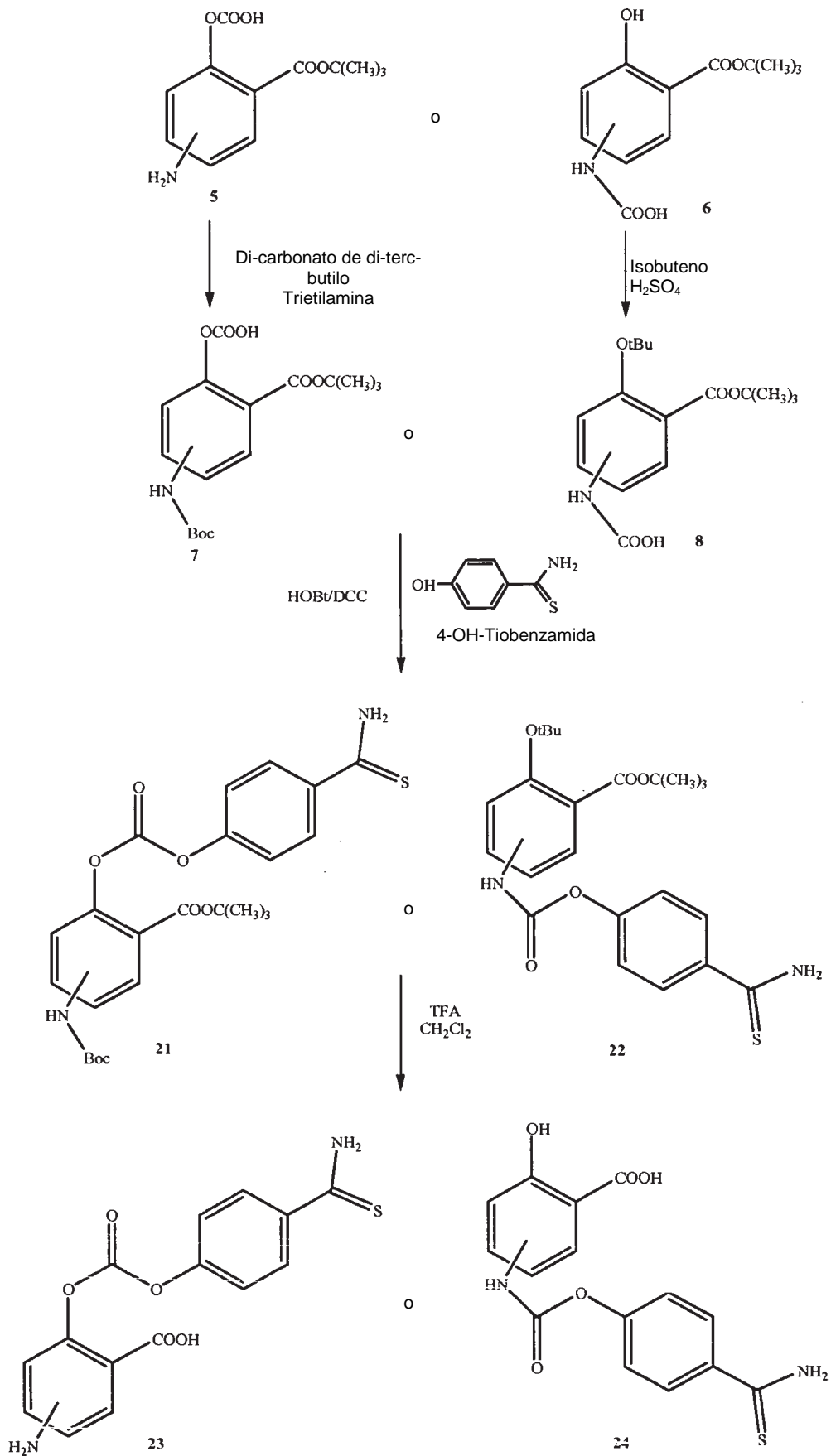
Se obtuvo el compuesto (20), un compuesto de Fórmula XIII, de acuerdo con el procedimiento descrito, obteniéndose el compuesto (19). Rendimiento 48 %.

35

**Ejemplo 8**

**Procedimiento general sintético de: ácido 4- ó 5-amino-2-(4-tiocarbamoil-fenoxicarboniloxi)-benzoico (23) [Compuesto de Fórmula XXVIII] ácido 2-hidroxi-4- ó 5-(4-tiocarbamoil-fenoxicarbonilamino)-benzoico (24) [Compuesto de Fórmula XXIX]**

40



**Síntesis de hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (7)**

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de (5) (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo hidrogenocarbonato de 2-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-terc-butoxicarbonilaminofenilo (7) (rendimiento de 80 %).

**Síntesis de ácido 3-(terc-butoxicarbonil)-4- ó 5-hidroxifenilo (8)**

Se agitaron el compuesto (6) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobuteno (5 psi o 34,47 kilopascales) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (8), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

**Síntesis de ácido 4- ó 5-amino-2-(4-tiocarbamoil-fenoxicarboniloxi)benzoico (23)**

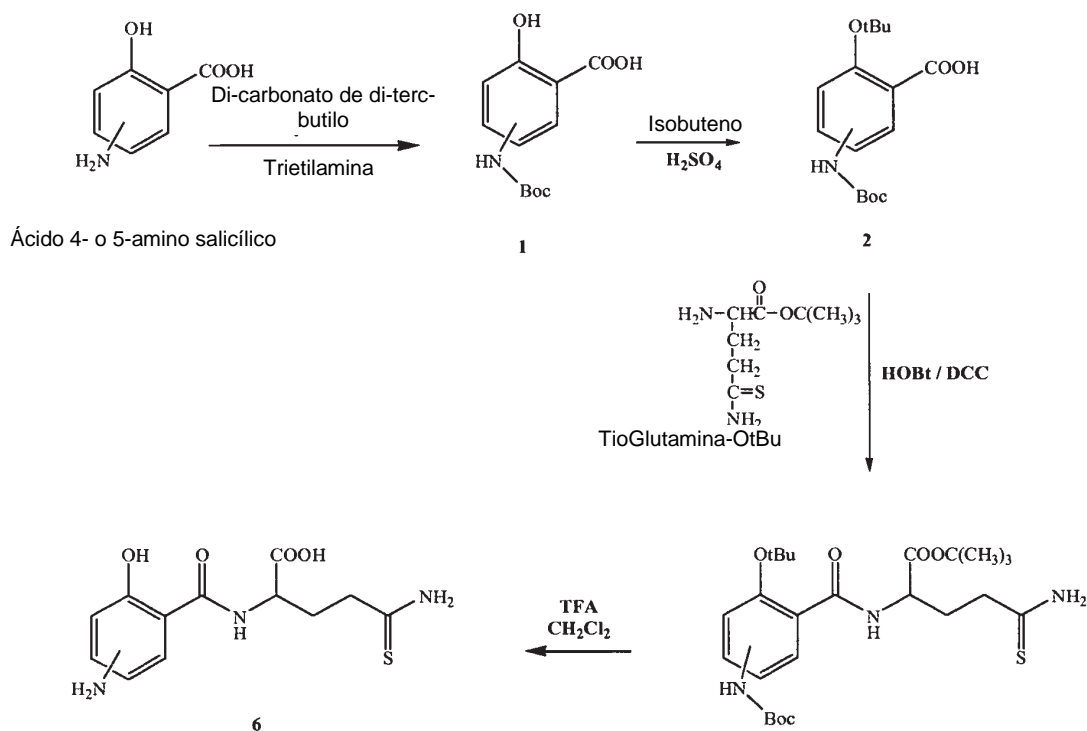
Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de (7) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió 4-hidroxi-tiobenzamida (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (21) con una solución de TFA 40 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Transcurridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (23) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- ó 5-amino-2-(4-tiocarbamoil-fenoxicarboniloxi)benzoico (23) (rendimiento de 71 %), compuesto de fórmula XXVII.

**Síntesis de ácido 2-hidroxi-4- ó 5-(4-tiocarbamoil-fenoxicarbonilamino)-benzoico (24)**

Se obtuvo el compuesto (24), compuesto de Fórmula XXIX, de acuerdo con el procedimiento descrito, obteniéndose el compuesto (23). Rendimiento 68 %.

**Ejemplo 9**

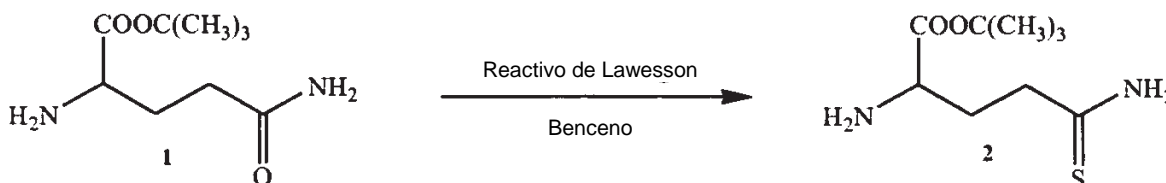
**Procedimiento general sintético de: ácido 2-(4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoilamino)-4-tiocarbamoil-butírico (6) [Compuesto de Fórmula XXI]**





**Síntesis de 5-tio-L-glutamina –OtBu (2)**

Se añadieron L-glutamina-OtBu · HCl (**1**) (1,2 mmol; 0,3 g) y reactivo de Lawesson (0,75 mmol; 0,3 g) a benceno (20 ml) y se calentó la mezcla a reflujo durante 15 min. Posteriormente, se enfrió la reacción y se evaporó a vacío. Se sometió a cromatografía el producto puro sobre 100 g de gel de sílice y se eluyó con mezclas de acetato de etilo y n-hexano. Se obtuvieron 0,2 g (rendimiento de 76 %) de producto (**2**) en forma de sólido de color blanco: RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,4 (s, 9H), 1,8-2,8 (m, 5H), 4,0-4,8 (m, 3H); EM (IEN), m/z 219 (M<sup>+</sup>).

**Síntesis de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)**

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 4- ó 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (**1**) (80 % de rendimiento).

**Síntesis de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2)**

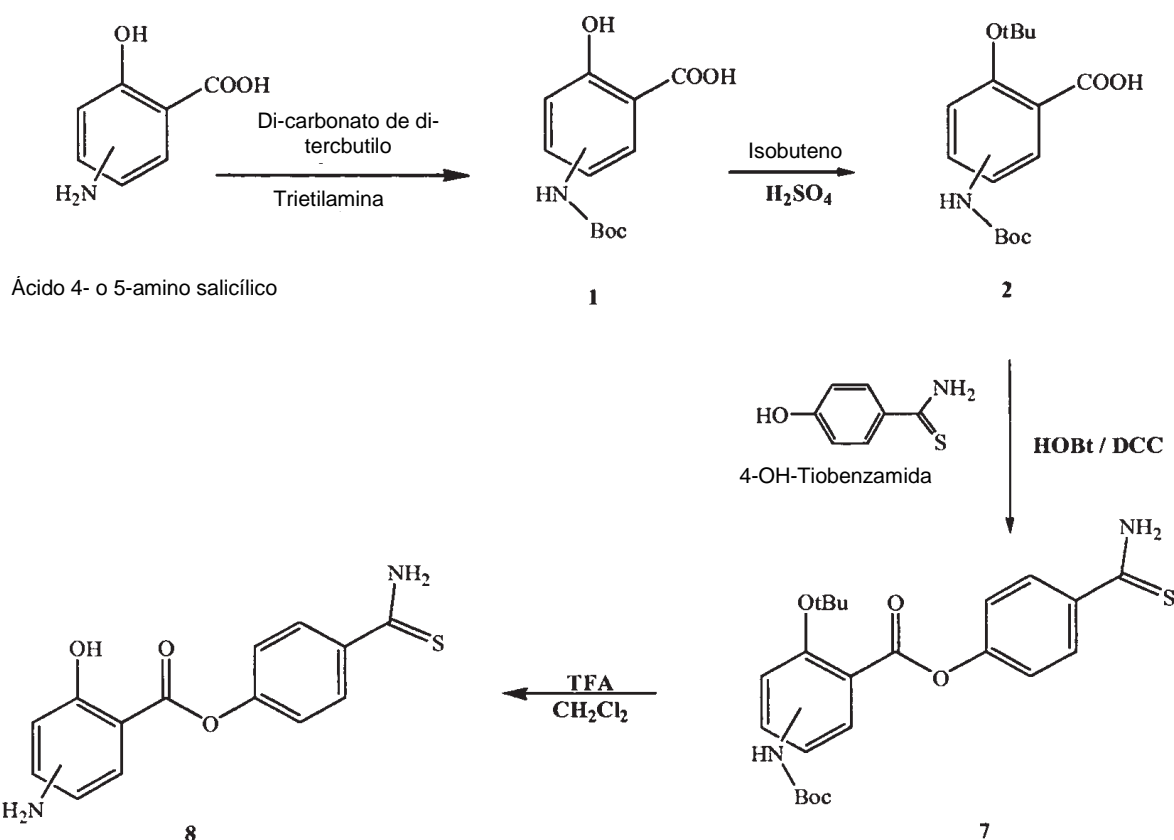
Se agitaron el compuesto (**1**) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascales) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (**2**), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

**Síntesis de ácido 2-(4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoilamino)-4-tiocarbamoil-butírico (6)**

Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (**2**) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadieron terc-butil éster de ácido 2-amino-4-tiocarbamoil-butírico (3,0 mmol) y trietilamina (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (**5**) con una solución de TFA (40 %) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Transcurridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (**6**) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 2-(4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoilamino)-4-tiocarbamoil-butírico (**6**) compuesto de fórmula XXI (rendimiento de 80 %). MS(IEN), m/z 298 (M<sup>+</sup>).

**Ejemplo 10**

**Procedimiento sintético general de: 4-tiocarbamoil-fenil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico (8)**  
[Compuesto de Fórmula XXVII]



#### Síntesis de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 4- ó 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (**1**) (rendimiento de 80 %).

#### Síntesis de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2)

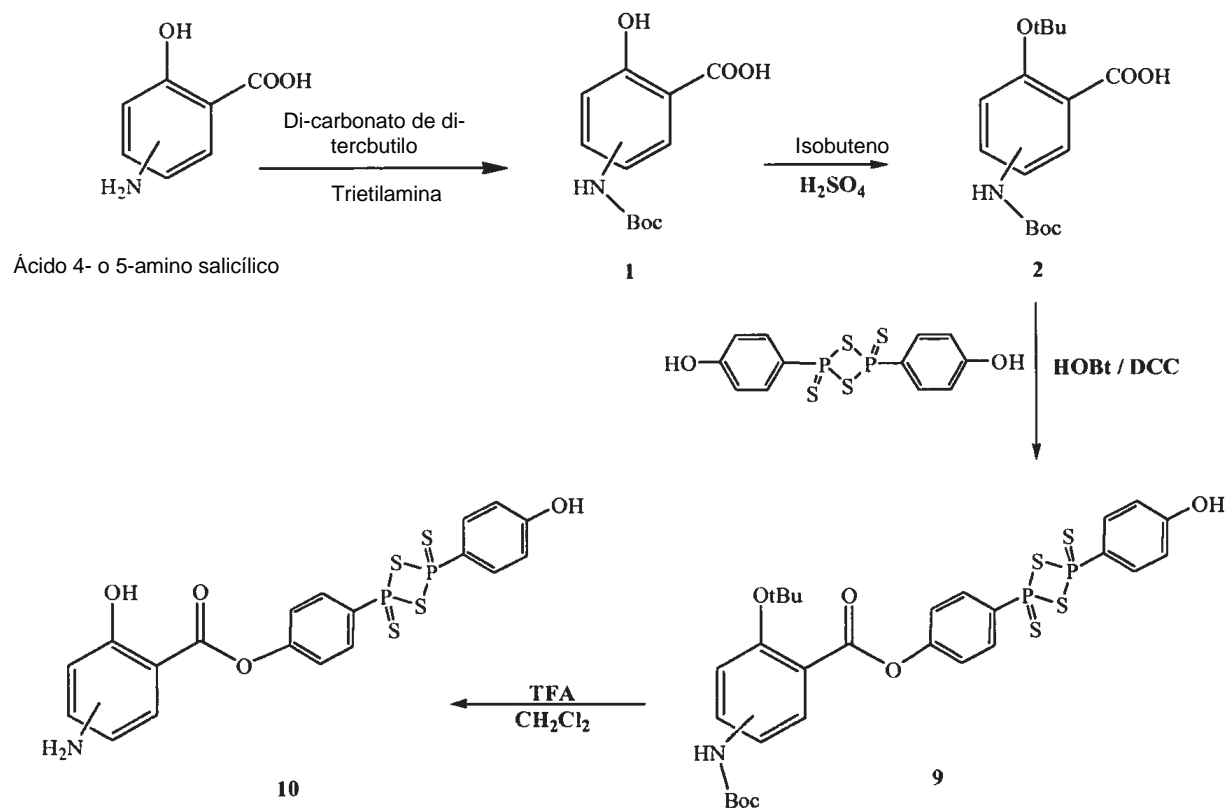
Se agitaron el compuesto (**1**) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascas) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (**2**), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

#### Síntesis de 4-tiocarbamoil-fenil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico (8)

Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (**2**) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió 4-hidroxi-tiobenzamida (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (**7**) con una solución de TFA 40 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Transcurridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (**8**) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo 4-tiocarbamoil-fenil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico (**8**) [compuesto de fórmula XXVII] (rendimiento de 48 %).

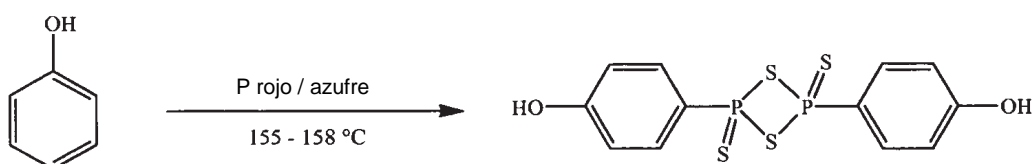
## Ejemplo 11

Procedimiento sintético general de: 4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>-4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenil éster de ácido 4- ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico (10) [Compuesto de Fórmula XVII]



## 5 Síntesis de anhídrido (p-hidroxifenil)ditioposfónico

Se calentaron P rojo (4 g; 0,129 mol), S (4 g, 0,125 mol) y PhOH (4 g; 0,042 mol) durante 5,5 h a 155-158 °C; se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se recogió el precipitado (5,5 g, rendimiento de 34 %). P.f. 224-226 °C. Los análisis de RMN y MS fueron coherentes con el anhídrido p-hidroxifenil ditioposfónico.



## 10 Síntesis de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 4- ó 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1) (rendimiento de 80 %).

## Síntesis de ácido 4- ó 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2)

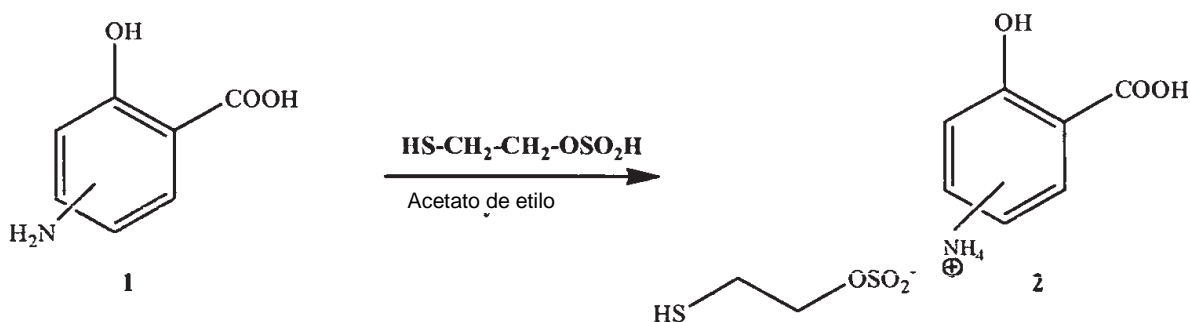
Se agitaron el compuesto (1) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascas) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con

agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (2), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

5 **Síntesis de 4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2 $\lambda^5$ -4 $\lambda^5$ -[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico (10)**

Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-tercbutoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (2) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió anhídrido p-hidroxifenilditiofosfónico (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro 9 con una solución de TFA (40 %) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Trascurridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto 10 en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (8/2), a partir de la cual se obtuvo 4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2 $\lambda^5$ -4 $\lambda^5$ -[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico (10), compuesto de Fórmula XVII (rendimiento de 73 %).

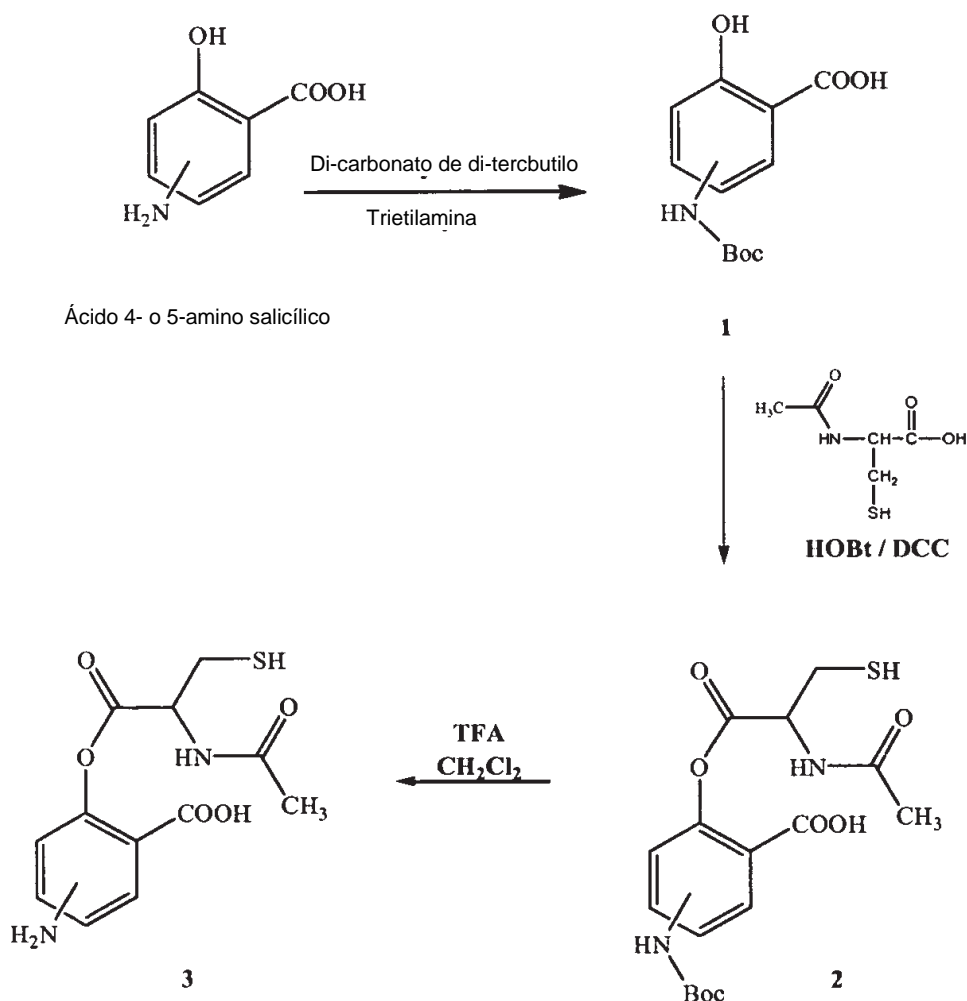
**Síntesis de mercaptoetanosulfonato de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico (2)**



20 Se añadió una mezcla de 2-mercapto-etil éster de ácido sulfuroso (0,1 mol) en 100 ml de acetato de etilo a la solución de ácido 4- o 5-amino salicílico (1) (0,1 moles en 100 ml de acetato de etilo) en 30-45 min a 20-25 °C bajo atmósfera inerte. Se agitó la mezcla a 0-5 °C durante 1 hora y se filtró para dar mercaptoetanosulfonato de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico (2) (rendimiento de 98 %).

**Ejemplo 12**

25 **Síntesis de ácido 4- o 5-amino-2-(2-acetilamino-3-mercapto-propioniloxi)-benzoico (3) [Compuesto de Fórmula XII]**



#### Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)

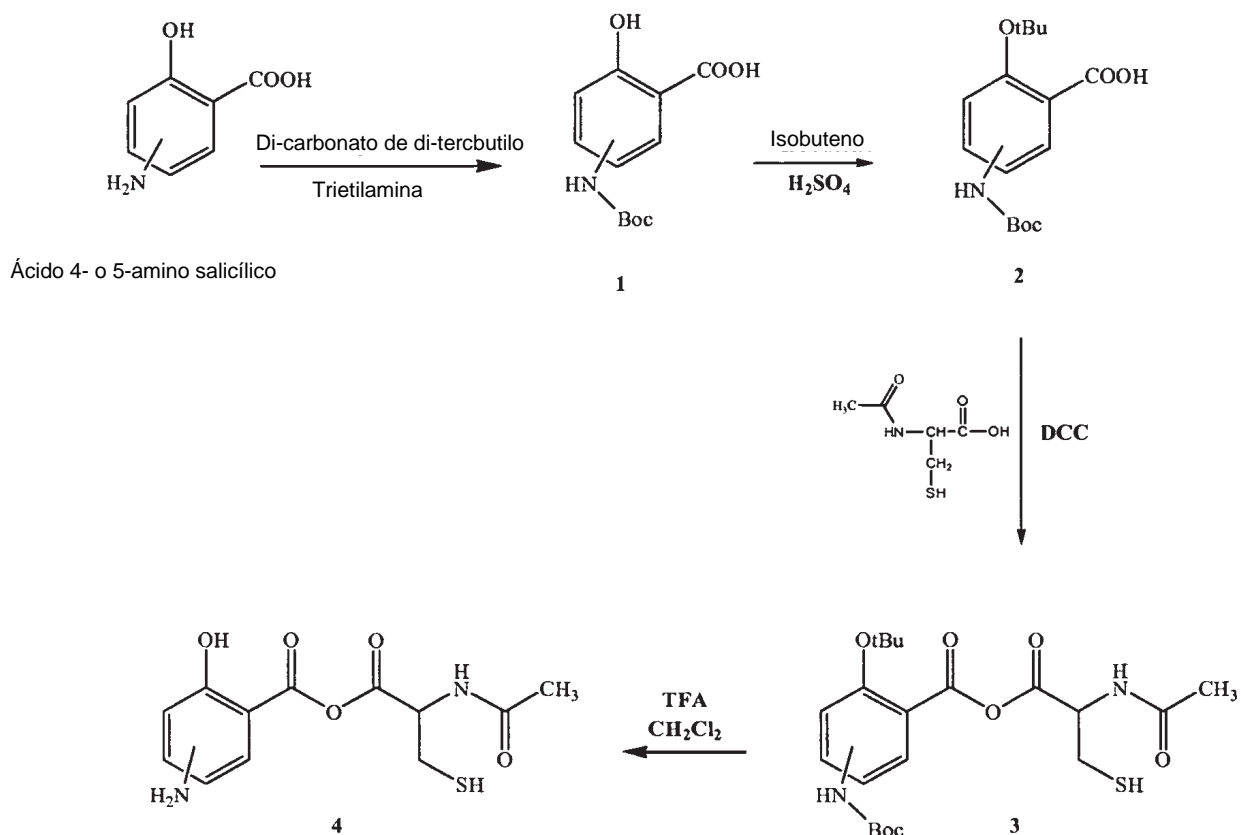
5 Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1) (rendimiento de 80 %).

#### Síntesis de ácido 4 ó 5-amino-2-(2-acetilamino-3-mercapto-propioniloxi)-benzoico (3)

10 Se añadieron hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 2-acetilamino-3-mercapto-propiónico (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (2) (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (2) con una solución de TFA 40 % en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Trascorridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (3) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 4 ó 5-amino-2-(2-acetilamino-3-mercapto-propioniloxi)-benzoico (3), compuesto de fórmula XII (rendimiento de 52 %).

#### 20 Ejemplo 13

Síntesis de anhídrido de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico con ácido 2-acetilamino-3-mercapto-propiónico (4) [Compuesto de Fórmula X]



#### Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)

5 Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1) (rendimiento de 80 %).

#### 10 Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2)

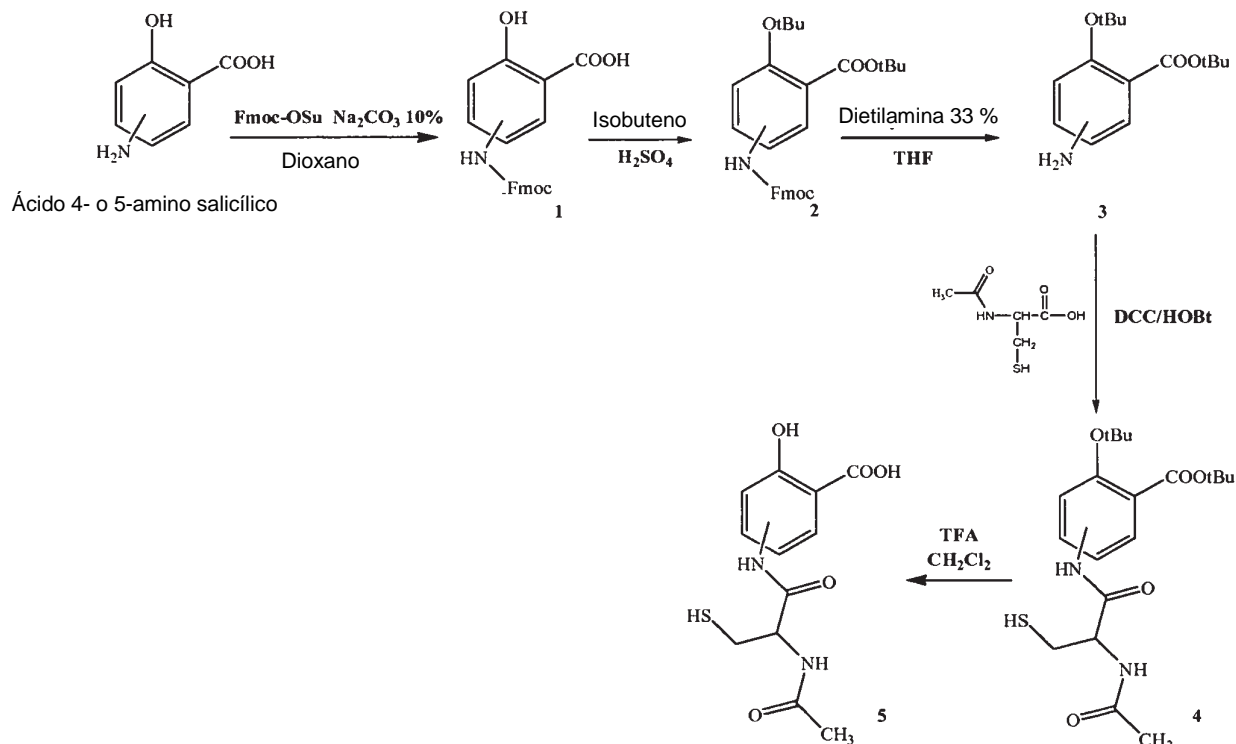
15 Se agitaron el compuesto (1) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascales) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (2), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

#### Síntesis de anhídrido de ácido 4 o 5-amino-2-hidroxibenzoico con ácido 2-acetilamino-3-mercapto-propiónico (4)

20 Se añadió DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-tercbutoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió ácido 2-acetilamino-3-mercapto-propiónico (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavaron las fases orgánicas con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (3) con una solución de TFA (40 %) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Trascorridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto 4 en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo anhídrido de ácido 4 o 5-amino-2-hidroxibenzoico con ácido 2-acetilamino-3-mercapto-propiónico (4) , compuesto de fórmula X (rendimiento de 68 %).

## Ejemplo 14

## Síntesis de ácido 4- o 5-(2-acetilamino-3-mercapto-propionilamino)-2-hidroxi-benzoico (5) [Compuesto de Fórmula XI]



## 5 Síntesis de ácido 4 ó 5-(9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonilamino)-2-hidroxi-benzoico (1)

Se añadieron Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10 % (15 ml) y Fmoc-OSu (15,0 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1) (rendimiento de 90 %).

## Síntesis de terc-butil éster de ácido 4- o 5-amino-2-terc-butoxi-benzoico (3)

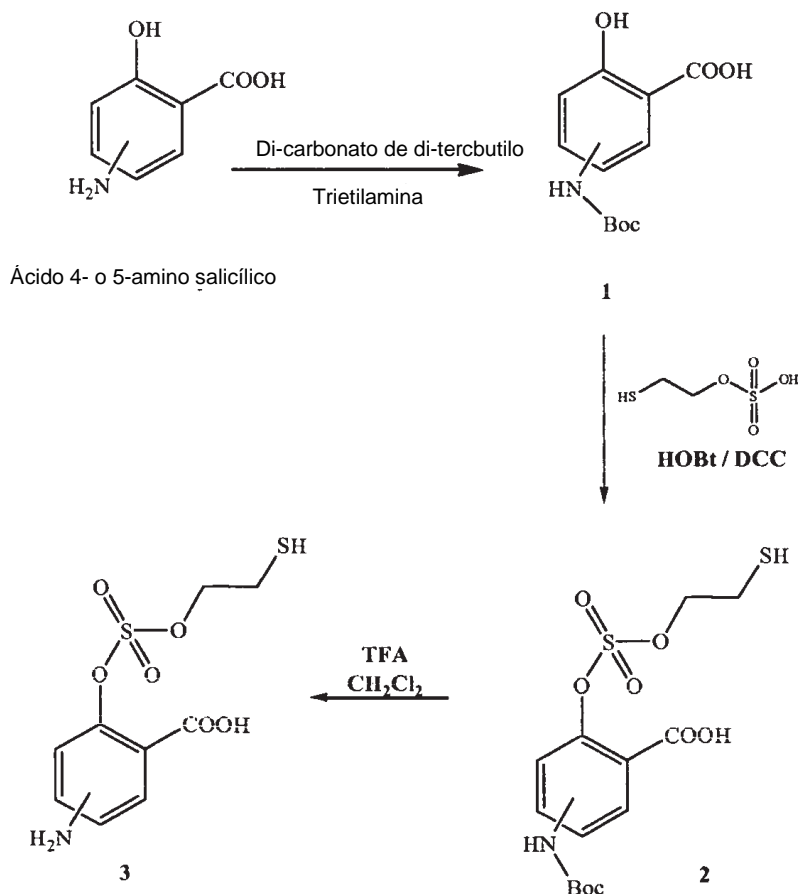
Se agitaron el compuesto (1) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (7 psi o 48,26 kilopascales) durante 24 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (2). Se trató el intermedio puro (2) con una solución de trietilamina (33 %) en THF. Tras 2 h, se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (3) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo terc-butil éster de ácido 4- o 5-amino-2-terc-butoxi-benzoico (3) (rendimiento de 67 %).

## Síntesis de ácido 4 o 5-(2-acetilamino-3-mercapto-propionilamino)-2-hidroxi-benzoico (5)

Se añadió hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 2-acetilamino-3-mercapto-propiónico (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió terc-butil éster de ácido 4- o 5-amino-2-terc-butoxi-benzoico (3) (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro 4 con una solución de TFA (40 %) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Trascorridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (5) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 4 o 5-(2-acetilamino-3-mercapto-propionilamino)-2-hidroxi-benzoico (5), compuesto de fórmula XI (rendimiento de 78 %).

## Ejemplo 15

## Síntesis de ácido 4- o 5-amino-2-(2-mercapto-etoxisulfonilo)-benzoico (3) [Compuesto de Fórmula XXXIV]



## 5 Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1) (rendimiento de 80 %).

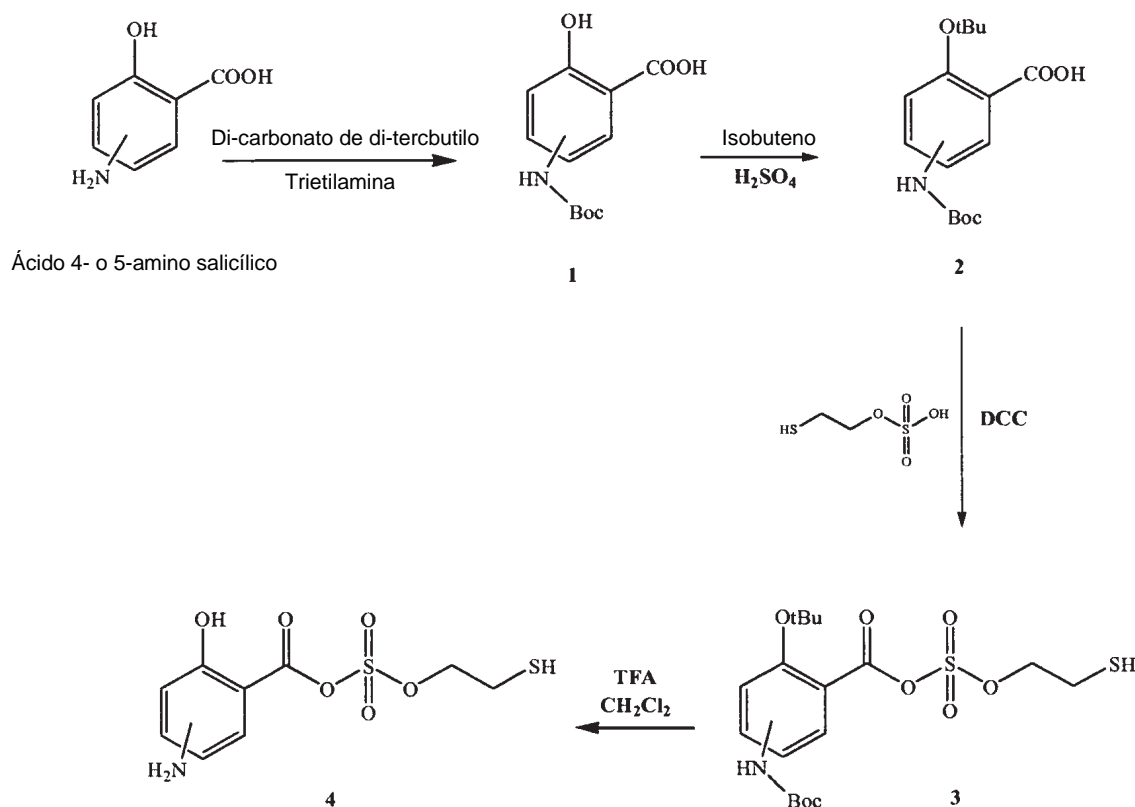
## Síntesis de ácido 4- o 5-amino-2-(2-mercapto-etoxisulfonilo)-benzoico (3)

Se añadió hidroxibenzotriazol (3,3 mmol) y DCC (3,3 mmol) a la solución de mono-(2-mercapto-etil) éster de ácido sulfúrico (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (2) (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (2) con una solución de TFA (40 %) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Trascorridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto 3 en forma de residuo bruto. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-amino-2-(2-mercapto-etoxisulfonilo)-benzoico (3), compuesto de fórmula XXXIV (rendimiento de 57 %).



## Ejemplo 16

## Síntesis de anhídrido de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico con mono-(2-mercapto-etil)éster de ácido sulfúrico (4) [Compuesto de Fórmula XXXIII]

5 **Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1)**

Se añadieron trietilamina (15,0 mmol) y dicarbonato de di-terc-butilo (15,0 mmol) a la solución de ácido 5-amino salicílico (10,0 mmol) en 25 ml de dioxano y 12,5 ml de agua, con agitación a 0 °C durante ½ hora. Se agitó mecánicamente la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. Tras la evaporación del disolvente, se añadió gota a gota HCl 3 M (15 ml) al residuo. Se filtró el precipitado, se lavó con agua y se secó. Se cargó el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9/1), a partir de la cual se obtuvo ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-benzoico (1) (rendimiento de 80 %).

15 **Síntesis de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2)**

Se agitaron el compuesto (1) (12,0 mmol), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (6,0 mmol) y DCM (100 ml) bajo gas de isobutileno (5 psi o 34,47 kilopascas) durante 6 h a temperatura ambiente. Se lavó la solución con NaHCO<sub>3</sub> 10 % frío (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se disolvió el residuo en MeOH/CCl<sub>4</sub> 1:1 (400 ml), se lavó con agua (300 ml) y posteriormente se sometió a extracción con MeOH/agua 1:1 (2 x 200 ml). Se secó el extracto (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó hasta obtener un sólido de color blanco (2), que se recristalizó en DCM/hexano (rendimiento de 83 %).

20 **Síntesis de anhídrido de ácido 4 ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico con mono-(2-mercapto-etil) éster de ácido sulfúrico (4)**

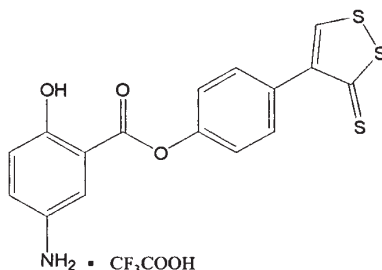
Se añadió DCC (3,3 mmol) a la solución de ácido 4- o 5-terc-butoxicarbonilamino-2-terc-butoxi-benzoico (2) (3,0 mmol) en 50 ml de dimetilformamida, con agitación a 0 °C durante 1h. Se añadió mono-(2-mercapto-etil)éster de ácido sulfúrico (3,0 mmol) a la mezcla de reacción, y se agitó mecánicamente durante 3 h a 0 °C y 72 h a temperatura ambiente. Tras la filtración, se evaporó el filtrado a presión reducida para retirar el disolvente. El residuo oleoso obtenido de este modo se disolvió en acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente. Se trató el intermedio puro (3) con una solución de TFA (40 %) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Transcurridas 2 h se retiró el disolvente, obteniéndose el compuesto (4) en forma de residuo puro. Se introdujo el residuo en una columna abierta de gel de sílice y se eluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (8/2), a partir de la cual se obtuvo anhídrido de ácido 4 ó 5-amino-2-hidroxi-benzoico con mono-(2-mercapto-etil) éster de ácido sulfúrico (4),

compuesto de fórmula XXXIII (rendimiento de 68 %).

### Caracterización de compuestos

#### Ejemplo 17

5 **4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 5-amino-2-hidroxi-benzoico [Referido en la presente memoria como Compuesto XXXV]**



10 Se llevó a cabo cromatografía en capa fina sobre placas 50 de gel de sílice Macherey-Nagel™ con un indicador fluorescente y se visualizaron las placas con luz UV (254 nm). Se usó Kieselgel™ 60 para la cromatografía en columna. Se adquirieron todos los reactivos de síntesis en Aldrich-Sigma Chemical Company y se usaron sin purificación. Los disolventes fueron de calidad de reactivo de análisis o mayor pureza y se usaron tal y como fueron suministrados. Se secaron las soluciones sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se usó un evaporador rotatorio Buchi™ R-114 para la retirada de los disolventes a vacío. Se verificaron las estructuras por medio del espectroscopia de protón RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C. Se registraron los espectros en un instrumento Varian Mercury Plus 400. Se registraron los espectros en DMSO. Se usaron las siguientes abreviaturas para describir patrones de picos cuando resultó apropiado: s (singlete), d (doblete). Los desplazamientos químicos se refieren a Me<sub>4</sub>Si como patrón interno. Se llevaron a cabo los espectros de masas de los productos sintetizados en un espectrómetro de masas Applied Biosystem™ API 2000. Se determinó el punto de fusión usando un aparato de etapa caliente Kofler™ y están sin corregir.

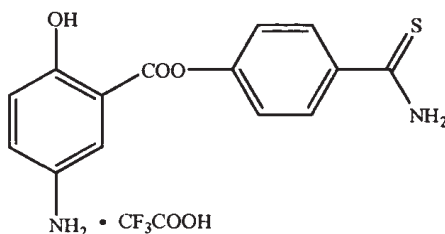
RMN-<sup>1</sup>H (DMSO) δ 7,07 (d, 2H), 7,38 (d, 2H), 7,46 (d, 2H), 7,79 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,01 (d, 2H), 10,35 (s- OH);

20 RMN-<sup>13</sup>C (DMSO) δ 114,6; 119,6; 123,9; 127,7; 128,7; 129,4; 136,1; 153,8; 158,8; 165,4; 173,2; 189,7; 216,2; EM (EI), m/z 362 (M+);

p.f. 93-95 °C.

#### Ejemplo 18

**4-tiocarbamoil-fenil éster de ácido 5-amino-2-hidroxi-benzoico [Referido en la presente memoria como Compuesto XXVII]**



25 Se llevó a cabo cromatografía en capa fina sobre placas 50 de gel de sílice Macherey-Nagel con un indicador fluorescente y se visualizaron las placas con luz UV (254 nm). Se usó Kieselgel 60 para la cromatografía en columna. Se adquirieron todos los reactivos de síntesis en Aldrich-Sigma Chemical Company y se usaron sin purificación. Los disolventes fueron de calidad de reactivo de análisis o mayor pureza y se usaron tal y como fueron suministrados. Se secaron las soluciones sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se usó un evaporador rotatorio Buchi R-114 para la retirada de los disolventes a vacío. Se verificaron las estructuras por medio del espectroscopia de protón RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C. Se registraron los espectros en un instrumento Varian Mercury Plus 400. Se registraron los espectros en DMSO. Se usaron las siguientes abreviaturas para describir patrones de picos cuando resultó apropiado: s (singlete), d (doblete). Los desplazamientos químicos se refieren a Me<sub>4</sub>Si como patrón interno. Se llevaron a cabo los espectros de masas de los productos sintetizados en un espectrómetro de masas Applied Biosystem™ API 2000. Se determinó el punto de fusión usando un aparato de etapa caliente Kofler™ y están sin corregir.

RMN-<sup>1</sup>H (DMSO) δ 7,03 (d, 1H), 7,31 (d, 2H), 7,32 (s, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,97 (d, 1H), 9,55 (s, NH<sub>2</sub>), 9,91 (s-, NH<sub>2</sub>), 10,25 (s, -OH);

RMN-<sup>13</sup>C (DMSO) δ 114,4; 119,5; 122,1; 122,7; 129,2; 129,5; 138,1; 152,1; 157,7; 165,9; 173,2; 189,7; 199,7; EM (EI), m/z 289 (M+);

5 p.f. 193-195 °C.

### **Ensayo de los compuestos**

#### **Ejemplo 19**

**Estudio de variación de dosificación de hidrocloreuro de 4-(tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 2-hidroxi-5-amino-benzoico (Compuesto XXXV).**

#### 10 **Colitis inducida por TNBS en ratones**

En el siguiente ejemplo se usó un modelo de colitis experimental para animales de tipo estándar mediante la administración intracolónica de ácido 2,4,6-trinitrobencen-sulfónico (TNBS) en ratones. Una descripción detallada de este modelo se ha publicado en (Santucci et al. (2003) Gastroenterology 124:1281-94). Brevemente, se suministró TNBS por vía intracolónica a ratones Balb/c de 6-8 semanas de edad con una dosificación de 1,5 mg en 0,1 ml de etanol 30 %. Se distribuyeron aleatoriamente los ratones en varios grupos de tratamiento (n = 6 por grupo). Comenzando una hora después y continuando cada 12 h durante 5 días, se trataron los ratones por vía oral con un vehículo (carboximetilcelulosa 1 % (CMC)), 5-ASA (mesalamina) (25, 50 o 75 mg/kg) o con dosificaciones equimolares de hidrocloreuro de 4-(tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 2-hidroxi-5-amino-benzoico (Compuesto XXXV) (130 mg/kg) o con 66 % (100 mg/kg), 50 % (66 mg/kg) y 25 % (33 mg/kg) de esa dosificación. Se evaluó la presencia de diarrea y hemorragia fecal inadvertida en los ratones (encubiertos) al final del día del estudio y se midió su peso corporal. Se calculó una "puntuación de actividad de la enfermedad" en base a estos datos (escala de 0 a 4, como se muestra en el documento citado anteriormente). Tras el sacrificio, se tomó una muestra de colon para la medición de actividad de mieloperoxidasa (MPO), como marcador de infiltración de granulocito. Se compararon los resultados con los obtenidos en ratones sanos.

25 Las FIG. 1 y FIG. 2 muestran los resultados para la puntuación de la actividad de la enfermedad y actividad MPO, respectivamente. La FIG 1 muestra que el compuesto XXXV fue superior a mesalamina a la hora de reducir la puntuación de actividad a dosificaciones equimolares de 50 mg/kg y 75 mg/kg. Además, como se muestra en la Figura 2, en las dosificaciones más elevadas sometidas a ensayo, se redujo la actividad de MPO de forma considerable (casi a la mitad).

#### 30 **Ejemplo 20**

**Comparación del Índice de Actividad de la Enfermedad y de la Actividad MPO del Compuesto XXXV con 5-ASA (Mesalamina) sola, (ADT-OH) sola, y una mezcla de mesalamina y ADT-OH**

35 Las Figuras 3 y 4 muestran el Índice de Actividad de la Enfermedad y la actividad MPO, respectivamente, usando el mismo modelo de colitis experimental para animales descrito anteriormente, en el que el Compuesto XXXV (130 mg/kg) se comparó con dosificaciones equimolares de sus dos componentes, mesalamina (50 mg/kg) y 5-p-hidroxifenil-1,2-dition-3-tiona (ADT-OH) (80 mg/kg), y una mezcla de mesalamina (50 mg/kg) y ADT-OH (80 mg/kg). \*p < 0,05 frente al grupo tratado con el excipiente. Cada grupo estaba formado por al menos 5 ratas.

40 La Figura 3 muestra que el Compuesto XXXV es casi dos veces más eficaz que la mesalamina sola, ADT-OH sola o la mezcla de mesalamina y ADT-OH a la hora de reducir los síntomas. Además, la Figura 4 muestra que el Compuesto XXXV redujo considerablemente la inflamación como queda indicado por la reducción de la infiltración del granulocito (menor actividad MPO).

#### **Ejemplo 21**

**Comparación del Índice de Actividad de la Enfermedad y de la Actividad MPO de 5-amino-2-(4-tiocarbamoil-fenoxicarbonilo)-benzoico (Compuesto XXVII)**

45 Las Figuras 6 y 7 muestran el Índice de Actividad de Enfermedad y MPO, respectivamente, usando el mismo modelo de colitis experimental para animales descrito anteriormente, en el que el Compuesto XXVII (100 mg/kg) se comparó con dosificaciones equimolares de sus dos componentes, mesalamina (50 mg/kg) y 4-hidroxiobenzamida (4-HTB) (50 mg/kg), mesalamina sola (50 mg/kg) y 4-HTB sola (50 mg/kg). \*p < 0,05 frente al grupo tratado con el excipiente. Cada grupo estaba formado por al menos 5 ratas.

50 La Figura 5 muestra que el Compuesto XXVII es casi tres veces más eficaz que la mesalamina sola, 4-HTB sola o la mezcla de mesalamina y 4-HTB a la hora de reducir los síntomas. Además, la Figura 6 muestra que el Compuesto XXVII redujo considerablemente la inflamación como queda indicado por la reducción de la infiltración del granulocito (menor actividad MPO).

**Ejemplo 22****Efectos de Mesalamina y Compuesto XXXV en colitis inducida por TNBS en ratones**

Se usó el mismo modelo que se ha descrito anteriormente. En este ejemplo, se compararon los efectos de mesalamina (50 mg/kg) con los de dosificaciones equimolares del Compuesto XXXV. Además de medir la gravedad de la colitis midiendo la puntuación de la actividad de la enfermedad y la actividad MPO, se procesaron los tejidos para la medición de un número de genes de citocinas inflamatorias y otros mediadores.

En particular, se midió la expresión de ARNm en ratones del factor alfa de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), interleucina colónica (IL)-1, IL-2, IL-10, IL-12 p40, RANTES, ciclooxigenasa (COX)-1, COX-2, óxido nítrico sintasa endotelial constitutiva (eNOS) e NOS inducible (iNOS) como se describe en Wallace et al. (1999) Gastroenterology 117:557-566.

Brevemente, se usó la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) para detectar y cuantificar ARNm de la citocina/quimiocina/enzima particular. Se usó gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) como "gen de verificación" para expresión de ARNm (es decir, como control interno). Para cada muestra, se obtuvo al proporción de amplificación del gen diana con respecto a la amplificación de GAPDH (la expresión de cada uno se mide llevando a cabo densitometría sobre geles). A continuación, se llevaron a cabo comparaciones entre la amplificación relativa (expresión) del gen diana en tejidos de los grupos de tratamiento en comparación con la expresión en tejidos de los controles sanos. De este modo, los datos que se muestran en las Figuras 7-14 representan la expresión relativa del gen diana (normalizado a la expresión de GAPDH) como proporción con respecto a la expresión de los controles sanos.

Con referencia a las Figuras 7-14, debe notarse que el Compuesto XXXV fue superior a mesalamina en cada uno de los puntos finales. Resulta particularmente interesante que el Compuesto XXXV suprimió la expresión de ARNm para varias citocinas pro-inflamatorias y quimiocinas que se encuentran implicadas en la patogénesis de la enteritis. No obstante, el Compuesto XXXV no suprimió la expresión de ARNm IL-10, que es una citocina anti-inflamatoria.

Además, el Compuesto XXXV suprimió ARNm tanto de COX-1 como de COX-2. COX-1 y COX-2 se encuentran implicadas en la síntesis de prostaglandinas, que son importantes en la inflamación. Además, el Compuesto XXXV también suprimió ARNm de eNOS e iNOS. Tanto eNOS como iNOS se encuentran implicados en las enfermedades del tracto GI.

**Ejemplo 23****Comparación de los efectos del Compuesto XXXV frente a Mesalamina en cuanto a inhibición de la viabilidad de células cancerígenas de colon humano HT-29 in vitro**

Se multiplicaron células HT-29 en cultivo usando procedimientos estándar. Se expusieron las células al vehículo (DMSO), mesalamina o Compuesto XXXV. Se sometieron a ensayo concentraciones que variaron entre 0,1 y 10 11M, sometiéndose a ensayo cada concentración en 6 pocillos. Tras 72 h de exposición de los fármacos en ensayo, se midió la viabilidad celular usando un ensayo MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il),2,5-difeniltetrazolio] (Carmichael et al. (1978) Cancer Res. 47, 936-942). Se calcularon las tasas de viabilidad celular como porcentaje de células tratadas con el excipiente (DMSO) y los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Concentraciones ( $\mu$ M)			
Fármaco	0,1	1	10
Mesalamina	103,8 $\pm$ 2,5	101,2 $\pm$ 3,5	91,1 $\pm$ 3,2
XXXV	88,4 $\pm$ 2,9**	87,3 $\pm$ 2,3**	79,6 $\pm$ 1,9**
** p < 0,01 frente al grupo tratado con mesalamina (misma concentración)			

**Ejemplo 24****Comparación de los efectos del Compuesto XXXV frente a Mesalamina en el Modelo de Ratas de Percepción del Dolor Visceral**

Se usó un modelo de percepción del dolor visceral en ratas, un modelo pre-clínico de síndrome del intestino irritable en lo siguiente ejemplos. Se introdujeron las ratas (macho, Wistar, 200-250 g, obtenidas en Charles River, Monza, Italia) en jaulas de plástico y se mantuvieron en condiciones controladas con ciclos de 12 horas luz/oscuridad con

presencia de luz desde la 7.00 AM. Tenían acceso libre al agua corriente y a alimentación estándar de laboratorio. Antes de los experimentos, se adiestraron de forma individual las ratas durante 2-3 horas al día en jaulas de plexiglas durante 2-3 días. Se permitió su adaptación a un entorno de movimiento-restricción. Para llevar a cabo el registro de la distensión colorectal (CRD) se retiró el alimento durante 12 h antes. Se llevaron a cabo los experimentos en ratas despiertas de manera encubierta ya que el observador no tenía conocimiento de la identidad del fármaco administrado a cada animal.

En el día de ensayo, se sedaron las ratas mediante inhalación con éter y se insertó por vía intrarrectal un globo de látex de 2 cm de longitud a 2 cm del extremo del ano y se fijó en la base de la cola. Se conectó el globo por medio de una cánula abovedada doble a un transductor de presión para controlar de forma continua la presión rectal por medio de un ordenador (PowerLab PC, A.D. Instruments, Milford, MA, EE.UU.) y a una jeringa para el inflado/desinflado del globo. A continuación, se introdujeron las ratas en una jaula pequeña (20 x 8 x 8 cm) sobre una plataforma elevada de Plexiglas™ y se dejaron despertar y en adaptación durante 1 hora. Tras recuperarse de la sedación, los animales se sometieron al procedimiento de CRD y se sometieron a ensayo las respuestas de comportamiento. La noche antes de los experimentos, se inflaron los globos y se dejó durante la noche de manera que el látex se contrajo y los globos se volvieron cómodos.

Se aplicó un CRD de 20 segundos, llevado a cabo cada 5 minutos, en un incremento de partida de 0,4 ml desde 0,4 ml hasta 1,6 ml de agua. Con el fin de conseguir una medición precisa de los parámetros colónicos y de la percepción, se repitieron las distensiones dos veces para cada intensidad y se calculó la media de datos para cada animal de análisis. Cada animal experimentó un grupo doble de CRD. Veinte minutos después de la primera secuencia de CRD (0,4 ml – 1,6 ml de agua), se administraron fármacos por vía intraperitoneal (i.p.) y se llevó a cabo un segundo grupo de CRD. Se evaluaron y compararon las respuestas de comportamiento durante el primer y el segundo grupo de CRD.

Se evaluó la respuesta a CRD midiendo el reflejo de retraimiento abdominal (AWR) usando una puntuación semicuantitativa (1). El AWR es un reflejo motor involuntario similar al reflejo visceromotor, pero tiene la ventaja de que, al contrario que éste último, no requiere cirugía abdominal para implantar electrodos de registro e hilos en la pared del músculo abdominal que pueden provocar sensibilidad adicional (véase Ness, T.J. y Gebhart, G.F. (1990) Pain 41: 167-234).

La medición de AWR consistió en la observación visual de la respuesta del animal a CRD gradual por medio observación inadvertida y asignación de una puntuación de CRD de acuerdo con la escala de comportamiento como se ha descrito previamente en Al-Chaer, E.D. et al. (2000) Gastroenterology 19: 1276-85, en la que la puntuación 0 corresponde a la inexistencia de respuesta de comportamiento a CRD, la puntuación de 1 corresponde a un leve movimiento de cabeza al comienzo del estímulo seguido de inmovilidad, la puntuación de 2 corresponde a una contracción moderada de los músculos abdominales aunque no se produce la elevación del abdomen de las ratas de la plataforma, la puntuación 3 corresponde a una fuerte contracción de los músculos abdominales con elevación del abdomen de la plataforma la puntuación 4 corresponde a una contracción severa del músculo abdominal manifestada por el arqueado y la elevación del abdomen y de las estructuras pélvicas y el escroto.

Se determinaron los efectos de la mesalamina y del Compuesto XXXV sobre el cumplimiento terapéutico colónico y la sensibilidad usando un total de 8 ratas en ayunas. Para investigar si la administración de mesalamina y del Compuesto XXXV podría revertir el dolor inducido por CRD, tras la primera secuencia de CRD, se trataron 4 ratas con mesalamina a una dosificación de 100 mg/kg i.p. o del Compuesto XXXV a una dosificación de 100 mg/kg i.p., después de que se repitiera el segundo grupo de CRD. Las Figuras 15(a) y (b) muestran los resultados de estos experimentos.

Para determinar la eficacia de la mesalamina o del Compuesto XXXV sobre el músculo liso, se obtuvo el cumplimiento terapéutico del colo-recto durante CRD a partir del volumen intracolorectal y de la presión y se expresó como ml/mm Hg. Las Figuras 16(a) y (b) muestran estos resultados.

Todos los datos presentados se encuentran en forma de media  $\pm$  ETM, para tamaños de muestra de 4 ratas/grupo; la comparación estadística de los datos pareados se llevó a cabo por medio de una prueba del orden con signo de Wilcoxon. Una probabilidad asociada (valor p) menor que 5 % se consideró importante.

Las Figuras 15(a) y (b) muestran que el Compuesto XXXV es más eficaz que la mesalamina (y el excipiente) a la hora de reducir el dolor visceral como respuesta a la distensión colorectal. Además, de manera satisfactoria, el Compuesto XXXV redujo la presión intrarectal, como se muestra en la Figura 16(b).

De este modo, el Compuesto XXXV, que también se ha comprobado que presenta actividad anti-inflamatoria eficaz, resulta útil en el tratamiento de varias afecciones inflamatorias del tracto alimenticio, así como de trastornos gastrointestinales tales como síndrome del intestino irritable, dispepsia, etc., que se caracterizan por una mayor nocicepción visceral (con o sin inflamación adjunta).

**Ejemplo 25****Puntuación de Percepción del Dolor del Compuesto XXXV y del Compuesto XXVII con o sin glibenclamida**

Se usó un modelo de percepción del dolor visceral en ratas como se ha descrito anteriormente para comparar las puntuaciones de percepción para el Compuesto XXXV y Compuesto XXVII con o sin glibenclamida, un inhibidor canales de K<sup>+</sup> sensibles a ATP (K<sub>ATP</sub>).

La Figura 17 muestra la puntuación de percepción del dolor como respuesta a 0,8 ml de distensión colorectal en grupos de ratas (al menos 5 por grupo) tratadas con el excipiente, mesalamina (100 mg/kg), Compuesto XXXV (100 mg/kg) o Compuesto XXVII (100 mg/kg). Tanto el Compuesto XXXV como el Compuesto XXVII redujeron la percepción del dolor de forma significativa (\*p < 0,05 frente al grupo tratado con el excipiente), mientras que mesalamina no presentó efecto significativo. Se invirtió la reducción de la percepción del dolor por parte del Compuesto XXXV y del Compuesto XXVII mediante pre-tratamiento con glibenclamida (10 mg/kg i.p. 30 min. antes), mientras que el pretratamiento con glibenclamida no afectó a la percepción del dolor de los grupos tratados con el vehículo o mesalamina, lo que sugiere que es posible que los canales de K<sup>+</sup> sensibles a ATP (K<sub>ATP</sub>) intervengan en la actividad anti-nociceptiva de los Compuestos XXXV y XXVII.

**Ejemplo 26****Comparación de Puntuación de Percepción del Dolor del Compuesto XXXV y del Compuesto XXVII con mesalamina**

La Figura 19 muestra los resultados de un experimento que usa el mismo modelo de dolor que se ha descrito anteriormente. Se compararon los efectos de tratamiento con mesalamina (50 mg/kg) con los efectos de dosificaciones equimolares de Compuesto XXXV (130 mg/kg), ADT-OH (80 mg/kg), Compuesto XXVII (100 mg/kg) y 4-HTB (50 mg/kg). Únicamente el Compuesto XXXV y el Compuesto XXVII redujeron de forma significativa la percepción del dolor (\* p < 0,05) cuando se compararon con el grupo tratado con el excipiente.

**Ejemplo 27****Efectos de los Compuestos XXXV y XXVII sobre la adherencia de leucocitos al endotelio vascular in vivo**

Se estudió la adherencia de leucocitos usando microscopia intravital, como se ha descrito previamente (Wallace et al., (1993) Am. J. Physiol. 265: 993-998). Se anestesiaron las ratas con pentobarbital de sodio (60 mg/kg i.p.) y se hicieron incisiones cauterizadas a lo largo de la zona abdominal. Se llevó a cabo una traqueotomía para facilitar la respiración. Se colocaron las ratas en decúbito supino y se dejó al descubierto una parte del mesenterio por medio de incisión abdominal. Se colocó con cuidado el mesenterio sobre un soporte de visión ópticamente transparente que permitió la trans-iluminación de un pedazo de tejido de 2 cm<sup>2</sup>. Se cubrió todo el tejido expuesto con una gasa mojada en solución salina para minimizar la deshidratación. Se mantuvo la temperatura del soporte en 37 °C y se sometió a perfusión con una solución salina de tampón de bicarbonato (pH 7,4). Se usaron un microscopio intravital (Nikon L25/0,35) y una lente de 10 aumentos para observar la micro-circulación meséntrica. Se escogieron vénulas pos-capilares con diámetros que variaron de 20 a 40 μm para el estudio. Una videocámara montada sobre el microscopio (Panasonic™ digital 5000) proyectó al imagen sobre una pantalla y se grabaron las imágenes para análisis en modo de lectura de grabación usando un grabador de cintas de video. Se grabaron las imágenes de la micro-circulación meséntrica 5 minutos antes de la administración de la aspirina (línea base), en el momento de la administración de la aspirina (tiempo 0-5) y cada 15 minutos durante 60 minutos. Se cuantificó de forma inadvertida la adherencia de leucocitos a partir de las imágenes de cinta de video de los vasos sanguíneos, fabricadas durante períodos de 5-minutos, como el número de leucocitos que permanecían en estado estacionario a lo largo de la pared de vaso sanguíneo durante 30 s o más (expresado por cada 100 μm de longitud de vénula). Se pre-trataron grupos de ratas (al menos 5 en cada uno) con el Compuesto XXXV (130 mg/kg), Compuesto XXVII (100 mg/kg), mesalamina (50 mg/kg) o el excipiente 60 min antes de la administración de la aspirina (o del excipiente). Estos fármacos se suministran por vía intragástrica. En algunos experimentos, se trataron las ratas con glibenclamida (10 mg/kg i.p.) o excipiente 30 min antes de la administración de estos compuestos.

La Figura 19 muestra la adherencia de leucocitos como respuesta a la administración intragástrica de aspirina, y los efectos de los compuestos. La aspirina mejoró de forma marcada la adherencia de leucocitos con respecto a la observada en el período de línea base (\*p < 0,05 frente al grupo excipiente + excipiente. El pretratamiento con el compuesto XXXV, pero no con mesalamina, evito el aumento de adherencia de leucocitos inducido por la aspirina. La glibenclamida sola no afecta a la adherencia de leucocito, y no afecta a la cantidad de adherencia de leucocitos inducida por la aspirina. La glibenclamida tampoco presentó efecto alguno en el grupo tratado con mesalamina más aspirina. No obstante, la glibenclamida invirtió el efecto regulador del Compuesto XXXV con respecto a la adherencia de leucocitos inducida por la aspirina.

La Figura 20 muestra la adherencia de leucocitos para el período de tiempo final del experimento (minutos 60-65). Esta gráfica ilustra la capacidad del Compuesto XXXV y del Compuesto XXVII para suprimir la adherencia de leucocitos inducida por la aspirina, y la capacidad del pre-tratamiento con glibenclamida para invertir este efecto inhibitor sobre la adherencia de leucocitos.

**Ejemplo 28****Generación de H<sub>2</sub>S por parte de 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 5-amino-2-hidroxi-benzoico (Compuesto XXXV) y ácido 4- o 5-amino-2-(4-tiocarbamoilfenoxicarbonilo)-benzoico (denominado como Compuesto XXVII)**

5 Se sometieron a ensayo dos compuestos, Compuesto XXXV y Compuesto XXVII, en cuanto a la generación de H<sub>2</sub>S en tres condiciones diferentes. También se midieron las concentraciones de H<sub>2</sub>S generadas durante 1 hora desde concentraciones 1 mM de L-cisteína, el resto liberador de H<sub>2</sub>S del Compuesto XXXV, ADT-OH (5-(4-amino-fenil)-[1,2]ditiol-3-iona, el resto liberador de H<sub>2</sub>S del Compuesto XXVII, 4-HBT (4-hidroxitobenzamida). Se sometió a ensayo la liberación de H<sub>2</sub>S en tres condiciones: (i) cuando el compuesto se encontraba en tampón, (ii) cuando el compuesto se encontraba en homogeneizado de hígado, y (iii) cuando el compuesto se encontraba en homogeneizado de hígado junto con un inhibidor de cistationina  $\gamma$ -liasa (PAG = propargilglicona-DL; 2 mM). Los resultados se muestran en la Figura 13. \*p < 0,05 en comparación con la liberación del grupo de excipiente. <sup>u</sup>p > 0,05 frente al correspondiente grupo de "homogeneizado". Se determinó la capacidad enzimática de la producción de H<sub>2</sub>S usando el mismo reactor que se ha descrito previamente (Khan et al. (1980) *Microchem J.* 25:388-395). Se introdujeron dos ml de una mezcla de reacción de ensayo en el reactor. La mezcla contenía 1 mM de L-cisteína (o compuesto), 2mM de 5'-fosfato de piridoxal, 100 mM de tampón de fosfato de potasio (pH = 7,4). Se hizo pasar una corriente constante de nitrógeno a través de la mezcla por medio de capilaridad por entrada de gas. Se iniciaron las reacciones transfiriendo los tubos de un baño de hielo hasta un baño de agua a 37 °C. La corriente de nitrógeno transportó el sulfuro ácido al segundo reactor que contenía 4 ml de solución tampón antioxidante de sulfuro (SAOB), formada por KOH 2M, ácido salicílico 1M y ácido ascórbico 0,22 M a pH 12,8[5]. Tras incubación a 37 °C durante 90 minutos, se añadió 1 ml de solución de ácido tricloroacético 10 % a la mezcla para detener la reacción. El H<sub>2</sub>S restante de la mezcla se llevó a cabo por medio de corriente de nitrógeno por medio de incubación otros 60 minutos a 37 °C. Se midió la concentración de sulfuro en solución de SAOB con un electrodo sensible a sulfuro (electrodo Modelo 9616 S<sup>2-</sup>/Ag<sup>+</sup>, Orion Research, Beverly, MA, EE.UU.). Para lo estudios en los que los compuestos de ensayo se sometieron a incubación en homogeneizado de hígado, se homogeneizaron 100-150 mg de hígados de rata aislados en 1m) de extractor de proteína T-PER enfriado en hielo. Se añadieron los homogeneizados a la mezcla de reacción a una concentración de 10 % (peso/volumen). Se incubó propargilglicina-DL 2 mM con homogeneizados de hígado durante 5 min a 37 °C antes de la reacción con la enzima. Khan, S.U. Morris, G.F. and Hidiroglou, M. (1980) Rapid estimation of sulfide in rumen and blood with a sulfide-specific ion electrode. *Microchem J.* 25:388-395.

Los resultados que se muestran en la Figura 21 sugieren que los derivados 4- o 5-ASA de la presente invención y, en particular, el Compuesto XXXV y el Compuesto XXVII presentan las siguientes características distintas:

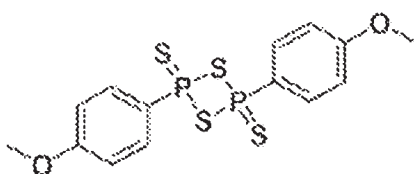
- 35 1. Los derivados liberan H<sub>2</sub>S de forma espontánea (en tampón), lo que resulta deseable para un efecto tóxico en el intestino. Los restos que liberan H<sub>2</sub>S solos, ADT-OH y 4-HTB y L-cisteína no dieron lugar a liberación importante de H<sub>2</sub>S cuando se incubaron solo en tampón;
2. La liberación de H<sub>2</sub>S es mayor cuando se produce en presencia de tejido;
- 40 3. La liberación de H<sub>2</sub>S de los derivados 4- o 5-ASA (distintos de anhídrido de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico con N-acetil-cisteína (Fórmula X), tiene lugar de forma independiente de la actividad de las dos enzimas principales de la síntesis endógena de H<sub>2</sub>S (cistationina  $\beta$ -sintasa y cistationina- $\gamma$ -liasa). Esto queda demostrado por la ausencia de efecto de un inhibidor de estas enzimas (PAG; propargilglicina-DL), sobre la generación de H<sub>2</sub>S a partir del Compuesto XXXV y el Compuesto XXVII. Por el contrario, la liberación de H<sub>2</sub>S de L-cisteína queda inhibida de forma intensa por PAG,
- 45 4. Las concentraciones de H<sub>2</sub>S producidas por el Compuesto XXXV y el Compuesto XXVII se encuentran dentro del intervalo de 10-20  $\mu$ M cuando se usa 1 mM del compuesto. Se pueden medir concentraciones de mesalamina 5 mM en el lumen colónico después de que los pacientes han tomado dosificaciones normales de este fármaco (*Dig. Dis. Sci.* 1989; 34: 573-578). Las concentraciones endógenas de H<sub>2</sub>S pueden ser tan elevadas como 160  $\mu$ M (*Antioxid. Redox. Signal.* 2003; 5, 493-501). Tanto el Compuesto XXXV como el compuesto XXVII liberan H<sub>2</sub>S en concentraciones que se encuentran dentro del intervalo fisiológico, minimizando de este modo la posibilidad de toxicidad debida a H<sub>2</sub>S. No obstante, debe entenderse que cuando la n-acetilcisteína es el resto liberador de H<sub>2</sub>S (compuestos de Fórmula X), se usa una dosificación menor debido a una mayor liberación de H<sub>2</sub>S procedente de la cisteína.

**Ejemplo 29****55 Efectos vasorrelajantes de los restos liberadores de H<sub>2</sub>S**

Se llevaron a cabo los siguientes experimentos usando esencialmente el protocolo descrito en Bucci, M. et al. (2004). La angiopatía diabética en ratones se encuentra ligada a la eliminación progresiva del receptor simpático acoplado a una expresión mejorada de caveolina-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 721-726. Se sacrificaron

ratones CD-1 y se diseccionó rápidamente la aorta torácica y se limpió de tejido graso y conectivo. Se cortaron anillos de 1,5-2 mm de longitud y se montaron sobre un baño aislado de órgano (Fort 10 World Precision Instruments, EE.UU.) relleno con solución de Krebs gasificada (95 % de O<sub>2</sub> + 5 % de CO<sub>2</sub>) a 37 °C. Se registraron los cambios de tensión isométrica con un sistema de adquisición de datos PowerLab™ (Ugo Basile, Italia). La composición de la solución de Krebs fue la siguiente (mol/l): NaCl 0,118, KCl 0,0047, MgCl<sub>2</sub> 0,0012, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,0012, CaCl<sub>2</sub> 0,0025, NaHCO<sub>3</sub> 0,025 y glucosa 0,010. Inicialmente se estiraron los anillos hasta alcanzar una tensión de reposo de 1,5 g y se equilibran durante al menos 40 minutos durante los cuales se ajustó la tensión, cuando fue necesario, hasta 1,5 g y se cambió de forma periódica la solución del baño. En un estudio preliminar se encontró que una tensión en reposo de 1,5 g desarrollaba la tensión óptima para la estimulación con agentes de contracción.

En cada uno de los experimentos se estandarizaron los anillos usando L-fenilefrina (PE) 1 µmol/l hasta que las respuestas fueron reproducibles. Para evaluar el efecto vasorrelajante de los compuestos sometidos a ensayo, se llevaron a cabo curvas acumuladas de concentración-respuesta (10 nM-3 mM) sobre anillos preconcentrados PE (1 µM) para los siguientes compuestos:



15

2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetan-2,4-disulfuro (reactivo de Lawesson),

tioacetamida, NaHS, 4-HTB y Na<sub>2</sub>S. El vehículo representa tampón pero no compuesto. Se construyeron curvas de los compuestos sometidos a ensayo en presencia de endotelio. Para evaluar la integridad del endotelio se llevó a cabo una curva de concentración-respuesta acumulada de Ach (10 nM – 30 µM) en anillos de PE previamente sometidos a contracción.

20

Los datos se muestran en la Figura 22 y se expresan como media ± ETM. Se determinó el nivel de significación estadística por medio de análisis de varianza de doble factor (ANOVA) seguido de ensayo de Bonferroni para comparación múltiple, usando el soporte lógico GraphPad™.

La Figura 22 muestra que los restos liberadores de H<sub>2</sub>S de la presente invención, concretamente, el Reactivo de Lawesson, 4-HTB y tioacetamida, mostraron todos efectos vasorrelajantes importantes, que dependían de la concentración, en comparación con el vehículo. Además, todas las curvas de relajación en % fueron comparables con las obtenidas usando NaHS y Na<sub>2</sub>S.

25



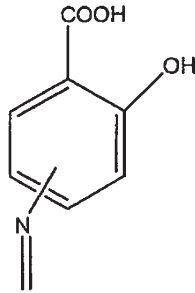
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general:

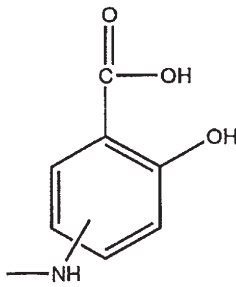


en la que

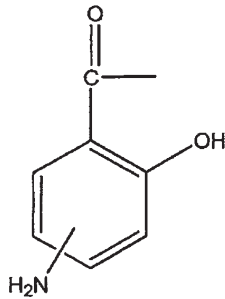
5 A es



en la que -N= se encuentra bien en la posición 4 ó 5,



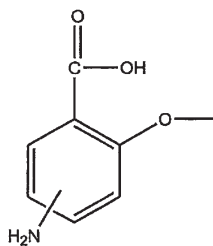
en la que -NH se encuentra bien en la posición 4 ó 5,



10

en la que -NH<sub>2</sub> se encuentra bien en la posición 4 ó 5,

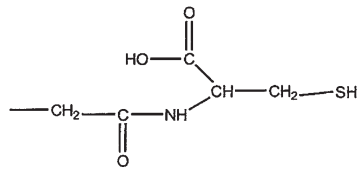
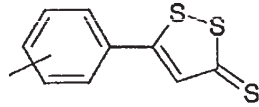
o



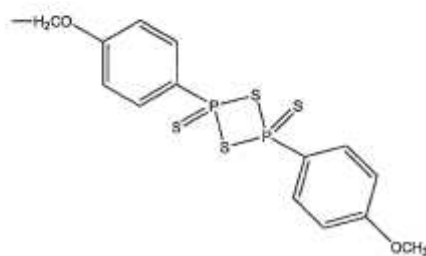
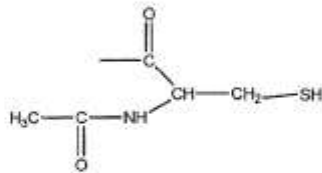
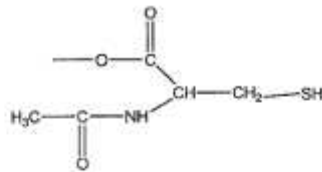
en la que  $-NH_2$  se encuentra bien en posición 4 ó 5;

L es O, O-C=O, S, N o un enlace covalente para formar una unión de tipo éster, anhídrido, tioéster, amida o azo; y

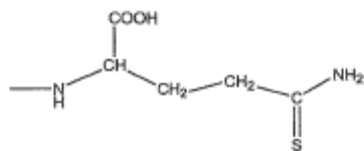
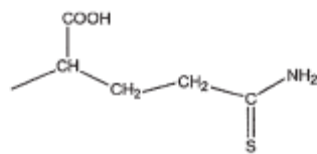
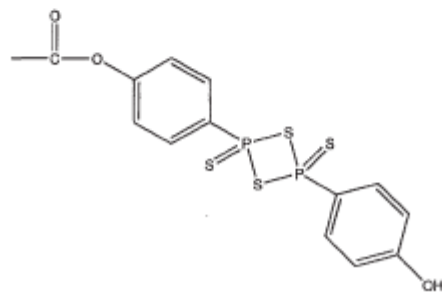
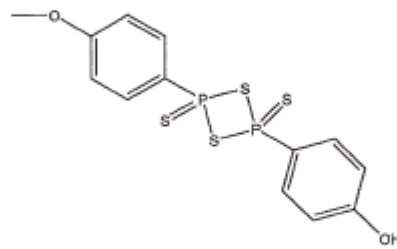
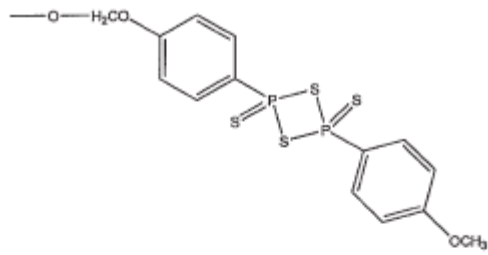
R es un resto liberador de ácido sulfhídrico que se escoge entre el grupo constituido por:

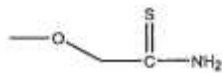
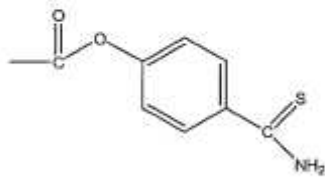
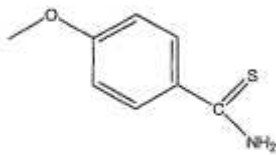
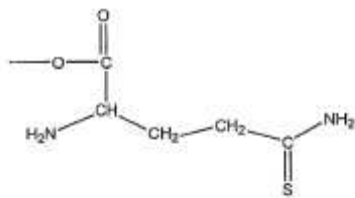
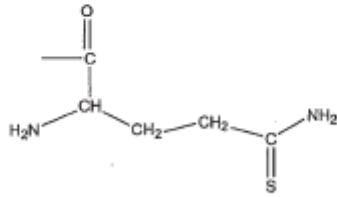
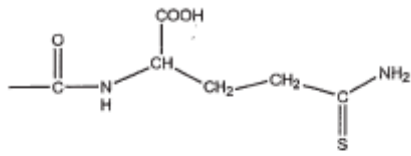


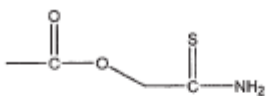
5



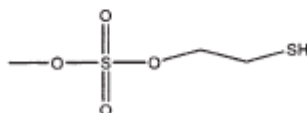
10







Y,



o una de sus sales.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que se escoge entre el grupo que comprende:

- 5  
 10  
 15  
 20  
 25  
 30  
 35  
 40
- Ácido 2-hidroxi-4- o 5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]-benzoico;
  - 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxycarbonilo]xi]-benzoico;
  - Ácido 2-hidroxi-4 ó 5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxycarbonilamino]-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-[[1-(1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metil]-azo]-2-hidroxi-benzoico;
  - Ácido (1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metil 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico;
  - Acido 4- o 5-amino-2-[(1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metoxycarbonilo]xi]-benzoico;
  - Acido 4- o 5- [(1-carboxi-2-mercapto-etilcarbamoil)-metoxycarbonilamino]-2-hidroxi-benzoico;
  - Acido 4- o 5-(2-acetilamino-3-mercapto-propionilamino)-2-hidroxi-benzoico;
  - Acido 2-(2-acetilamino-3-mercapto-propionilo)xi]-4- o 5-amino-benzoico;
  - Acido 2-hidroxi-4 ó 5-({4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoximetil}-azo)-benzoico;
  - Acido 4 ó 5-amino-2-{4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoximetoxycarbonilo]xi}-benzoico;
  - Acido 2-hidroxi-4 ó 5-{4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoximetoxycarbonilamino}-benzoico;
  - 4-[4-(4-metoxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoximetil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico;
  - 4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-{4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxycarbonilo]xi}-benzoico;
  - Ácido 2-hidroxi-4- o 5-{4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxycarbonilamino}-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilazo)-2-hidroxi-benzoico;
  - Ácido 2-(4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoilamino)-4-tiocarbamoil-butírico;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilcarbamoilo)xi]-benzoico;
  - Ácido 2-hidroxi-4- o 5-[3-(1-hidroxi-3-tiocarbamoil-propil)-ureido]-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-(2-amino-4-tiocarbamoil-butirilo)xi]-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-(2-amino-4-tiocarbamoil-butirilamino)-2-hidroxi-benzoico;
  - Anhídrido de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico con ácido 2-amino-4-tiocarbamoil-butírico;
  - 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoato de 4-tiocarbamoilfenilo;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-(4-tiocarbamoil-fenoxycarbonilo)xi]-benzoico;
  - Ácido 2-hidroxi-4- o 5-(4-tiocarbamoil-fenoxycarbonilamino)-benzoico;
  - Tiocarbamoilmetil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-tiocarbamoilmetoxycarbonilo]xi]-benzoico;
  - Ácido 2-hidroxi-4- o 5-tiocarbamoilmetoxycarbonilamino-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-(2-mercapto-etoxisulfonilo)xi]-benzoico; y
  - 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 5-amino-2-hidroxi-benzoico;

o una de sus sales.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que se escoge entre el grupo que comprende:

- 45
- Ácido 2-hidroxi-4- o 5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenilazo]benzoico;
  - 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico;
  - Ácido 4- o 5-amino-2-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxycarbonilo]xi]-benzoico;

- 5  
 10  
 15
- Ácido 2-hidroxi-4- o 5-[4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenoxicarbonilamino]-benzoico;  
 Ácido 4- o 5-(2-acetilamino-3-mercapto-propionilamino)-2-hidroxi-benzoico; ácido 2-(2-acetilamino-3-mercapto-propioniloxi)-4- o 5-amino-benzoico;  
 4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenil éster de ácido 4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoico;  
 Ácido 4- o 5-amino-2-{4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarboniloxi}-benzoico;  
 Ácido 2-hidroxi-4- o 5-{4-[4-(4-hidroxi-fenil)-2,4-ditioxo-2λ<sup>5</sup>, 4λ<sup>5</sup>-[1,3,2,4]ditiadifosfetan-2-il]-fenoxicarbonilamino}-benzoico;  
 10  
 Ácido 2-(4- o 5-amino-2-hidroxi-benzoilamino)-4-tiocarbamoil-butírico;  
 Ácido 4- o 5-amino-2-(1-carboxi-3-tiocarbamoil-propilcarbamoiloxi)-benzoico;  
 4- o 5-amino-2-hidroxibenzoato de 4-tiocarbamoilfenilo;  
 Ácido 4- o 5-amino-2-(4-tiocarbamoil-fenoxicarboniloxi)-benzoico;  
 15  
 Ácido 2-hidroxi 4- o 5-(4-tiocarbamoil-fenoxicarbonilamino)-benzoico; y ácido 4- o 5-amino-2-(2-mercapto-etoxisulfoniloxi)-benzoico;
- o una de sus sales.
4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 4-(5-tioxo-5H-[1,2]ditiol-3-il)-fenil éster de ácido 5-amino-2-hidroxi-benzoico, o una de sus sales.
- 20  
 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, 4-tiocarbamoilfenil-5-amino-2-hidroxibenzoato, o una de sus sales.
6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto que se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una de sus sales aceptables farmacéuticamente y un excipiente o vehículo aceptable farmacéuticamente.
- 25  
 7. El uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio del tracto gastrointestinal en un sujeto.
8. El uso de un compuesto que se reivindica en la reivindicación 7, en el que el trastorno inflamatorio se escoge entre el grupo constituido por enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y síndrome del intestino irritable.
9. El uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la preparación de un medicamento para la prevención del cáncer de colon.
- 30

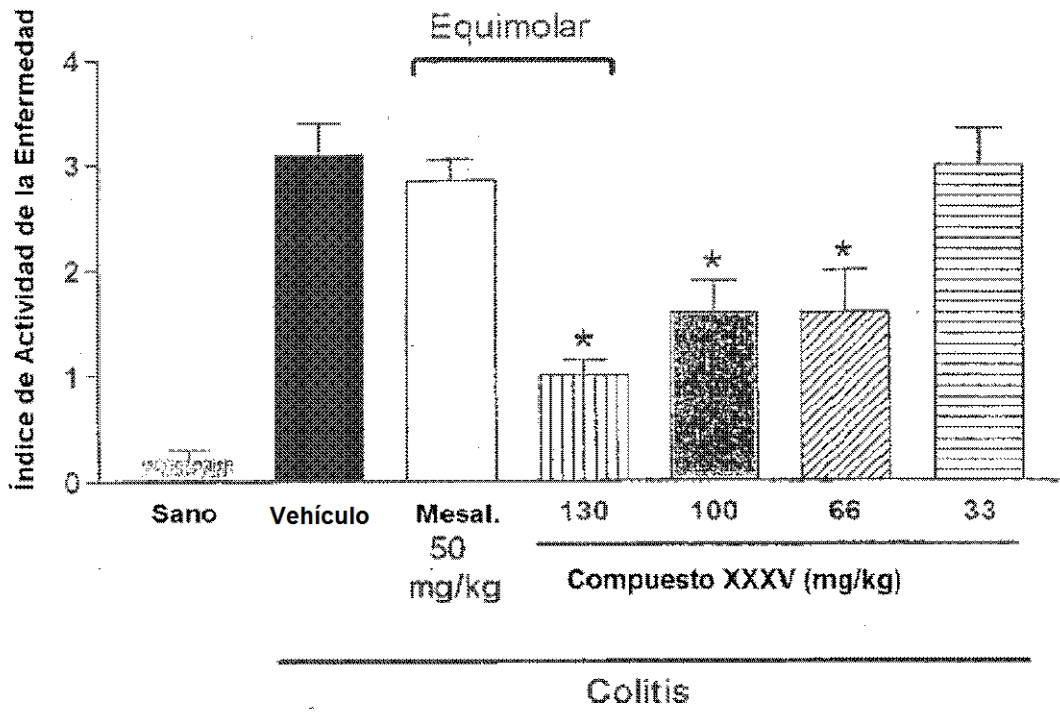


FIGURA 1

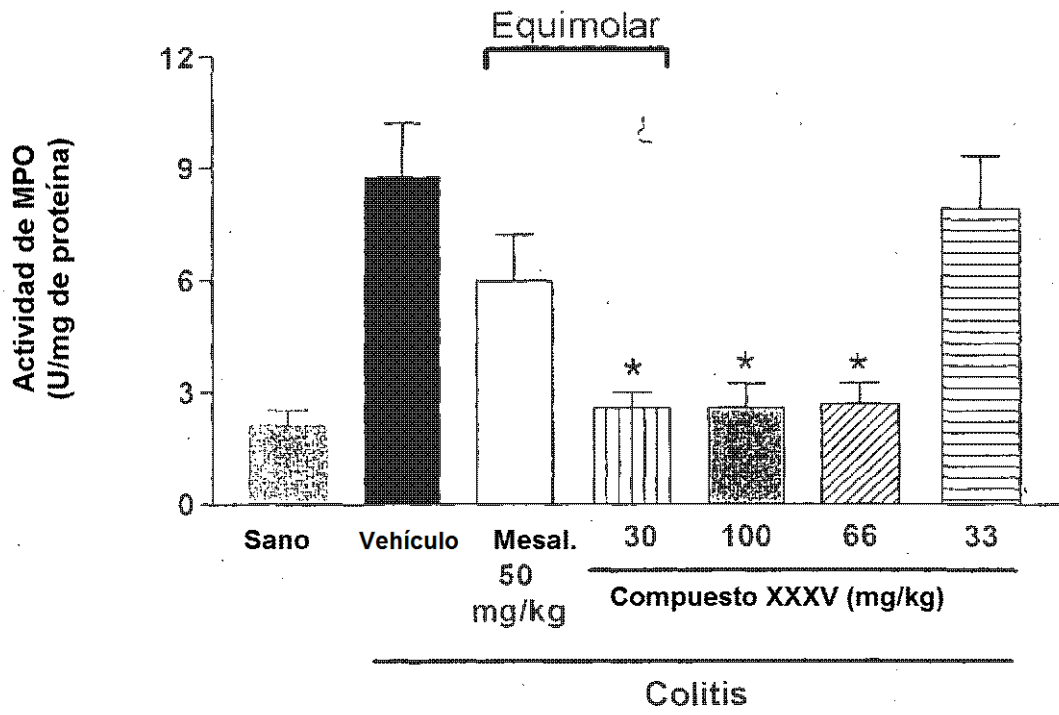


FIGURA 2



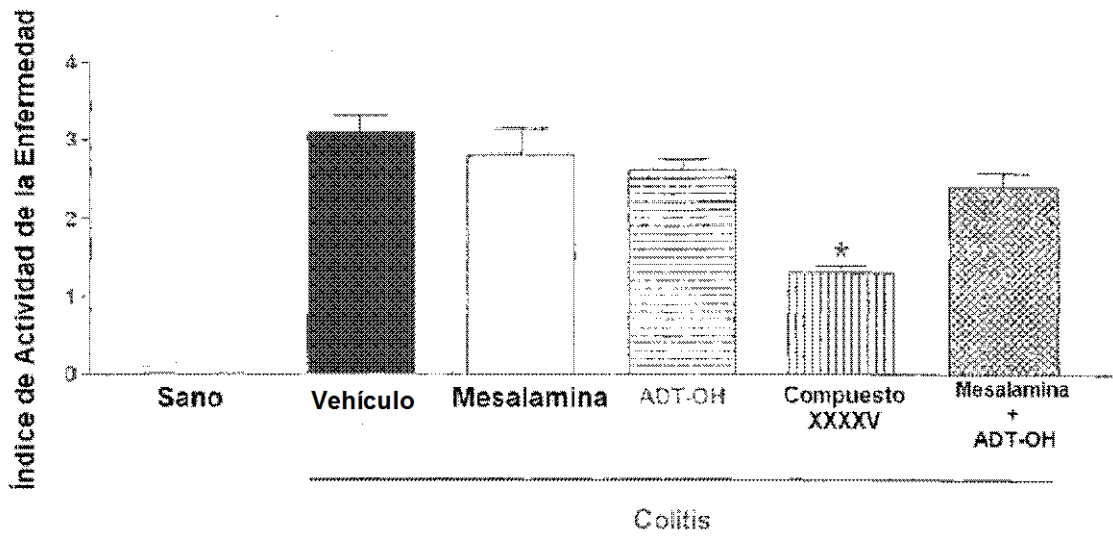


FIGURA 3

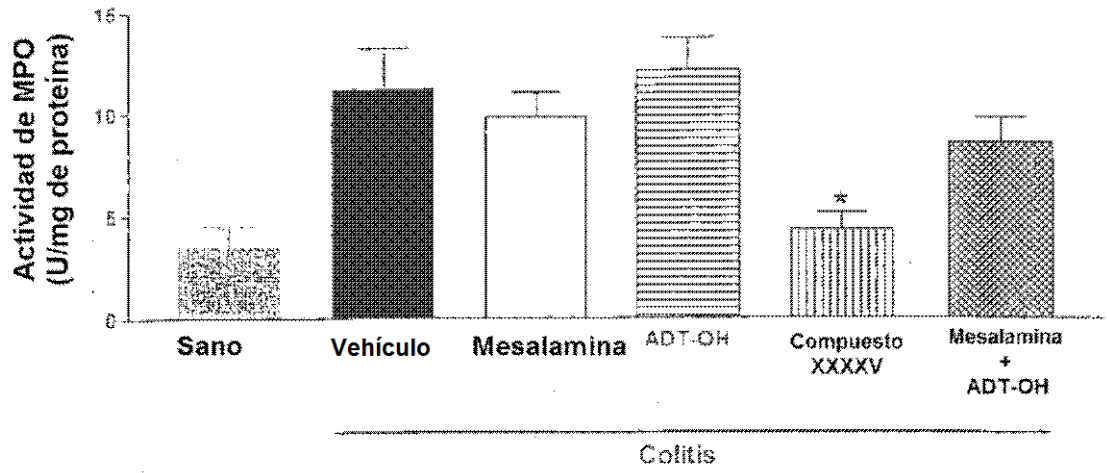


FIGURA 4

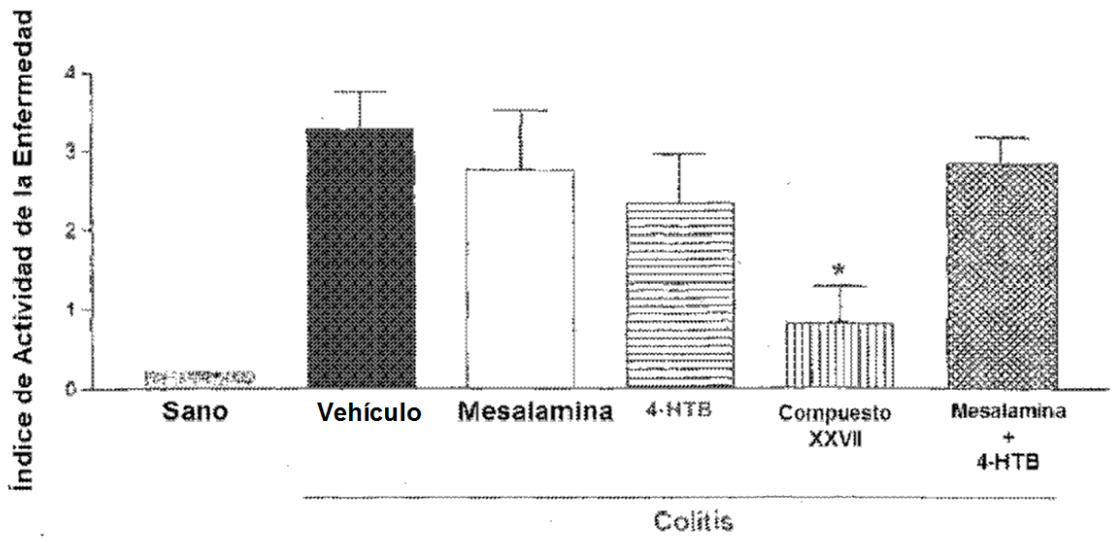


FIGURA 5

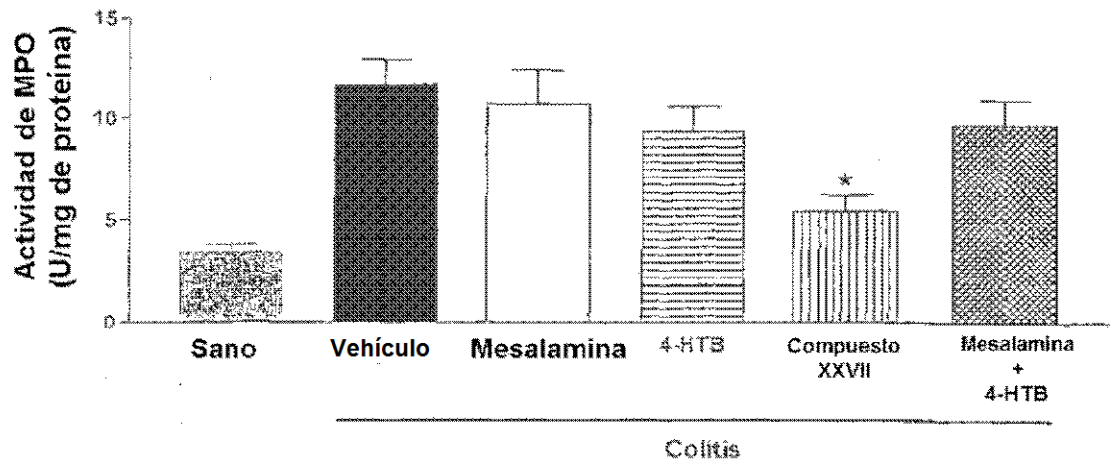
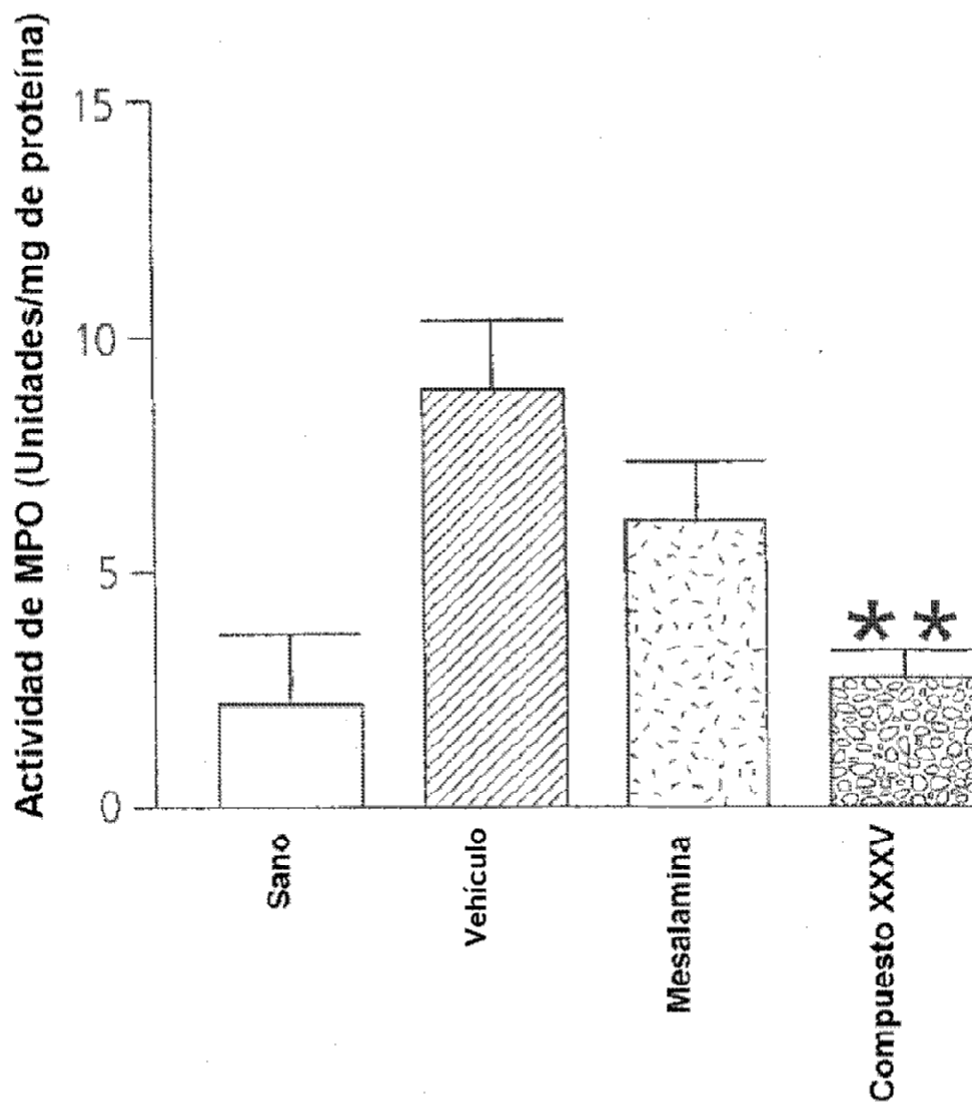


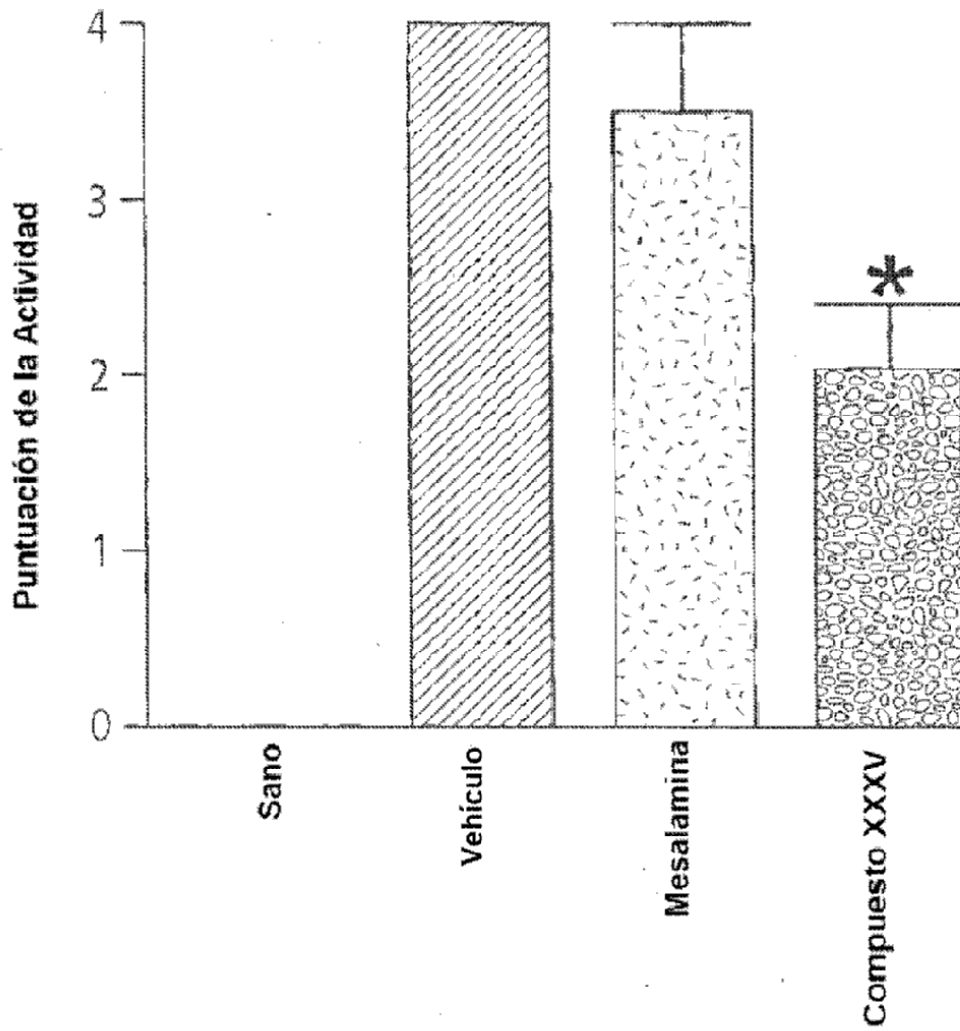
FIGURA 6

FIGURA 7



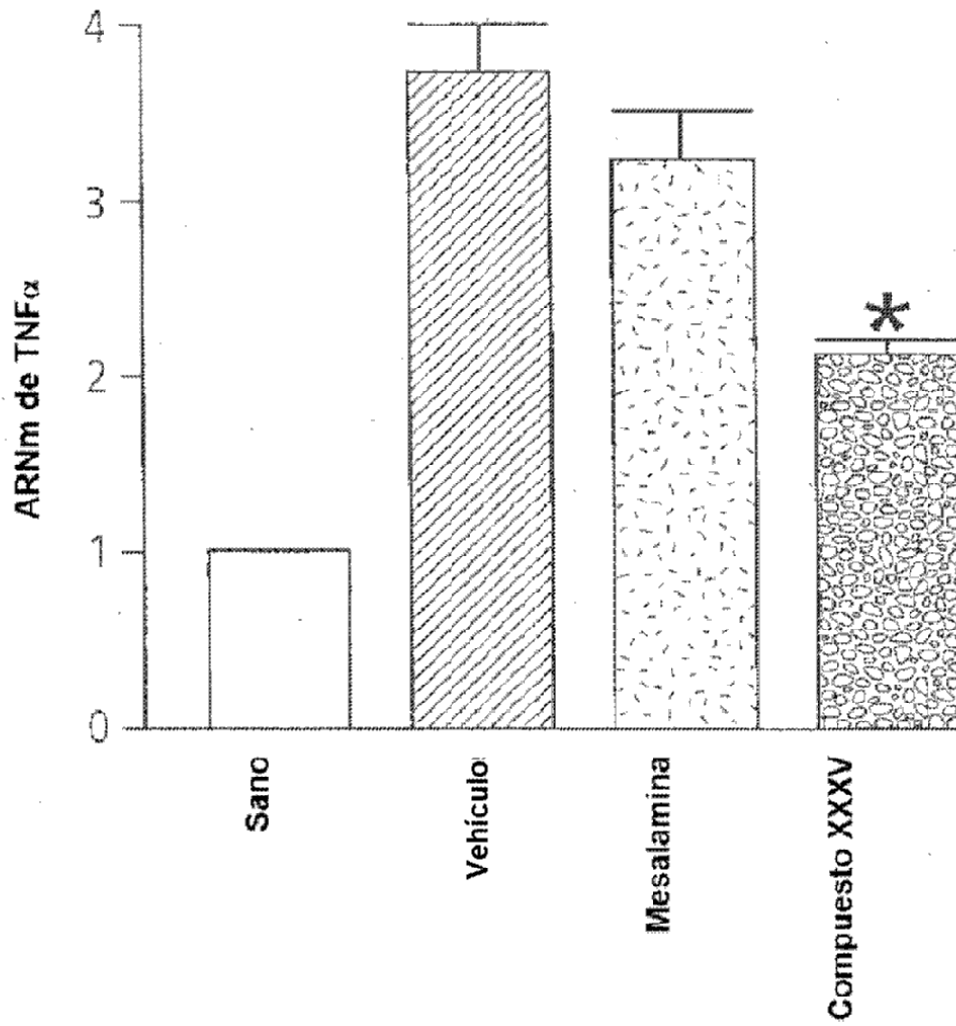
\*\*p<0,01

FIGURA 8



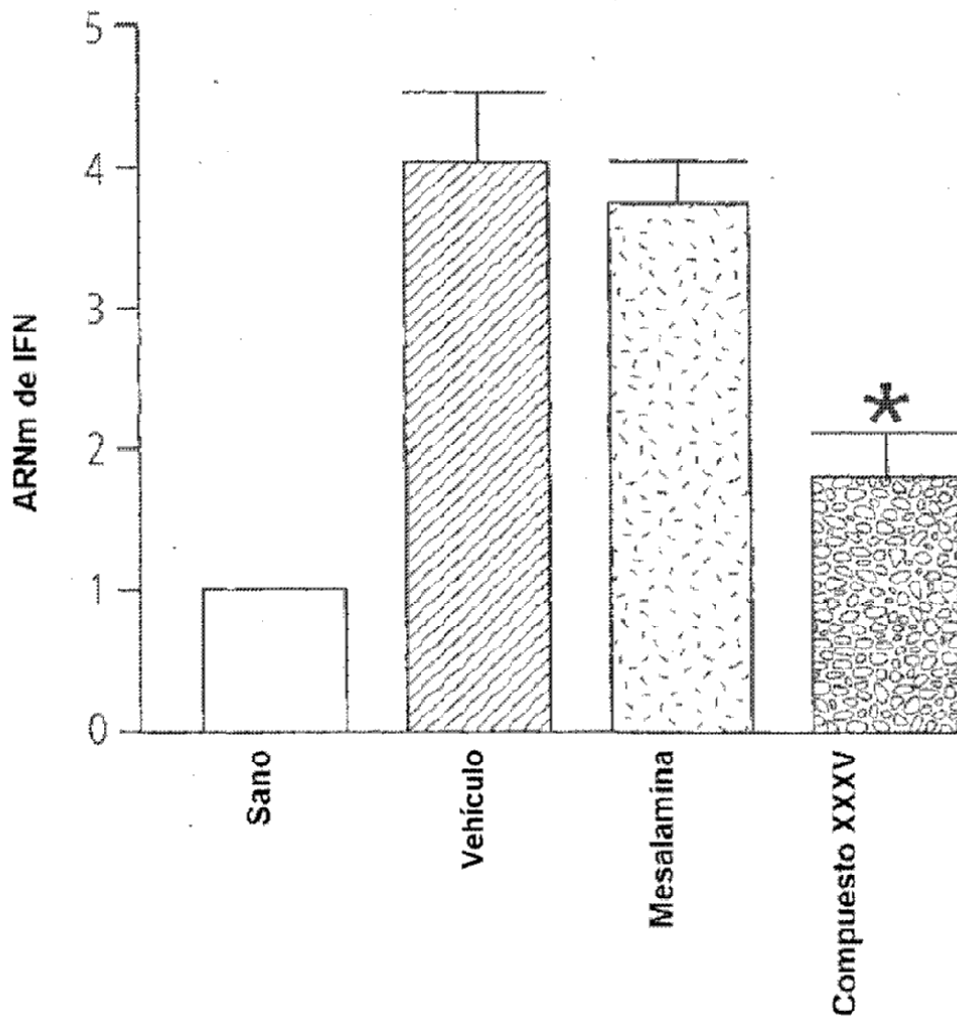
\*p<0,05

FIGURA 9



\*p<0,05

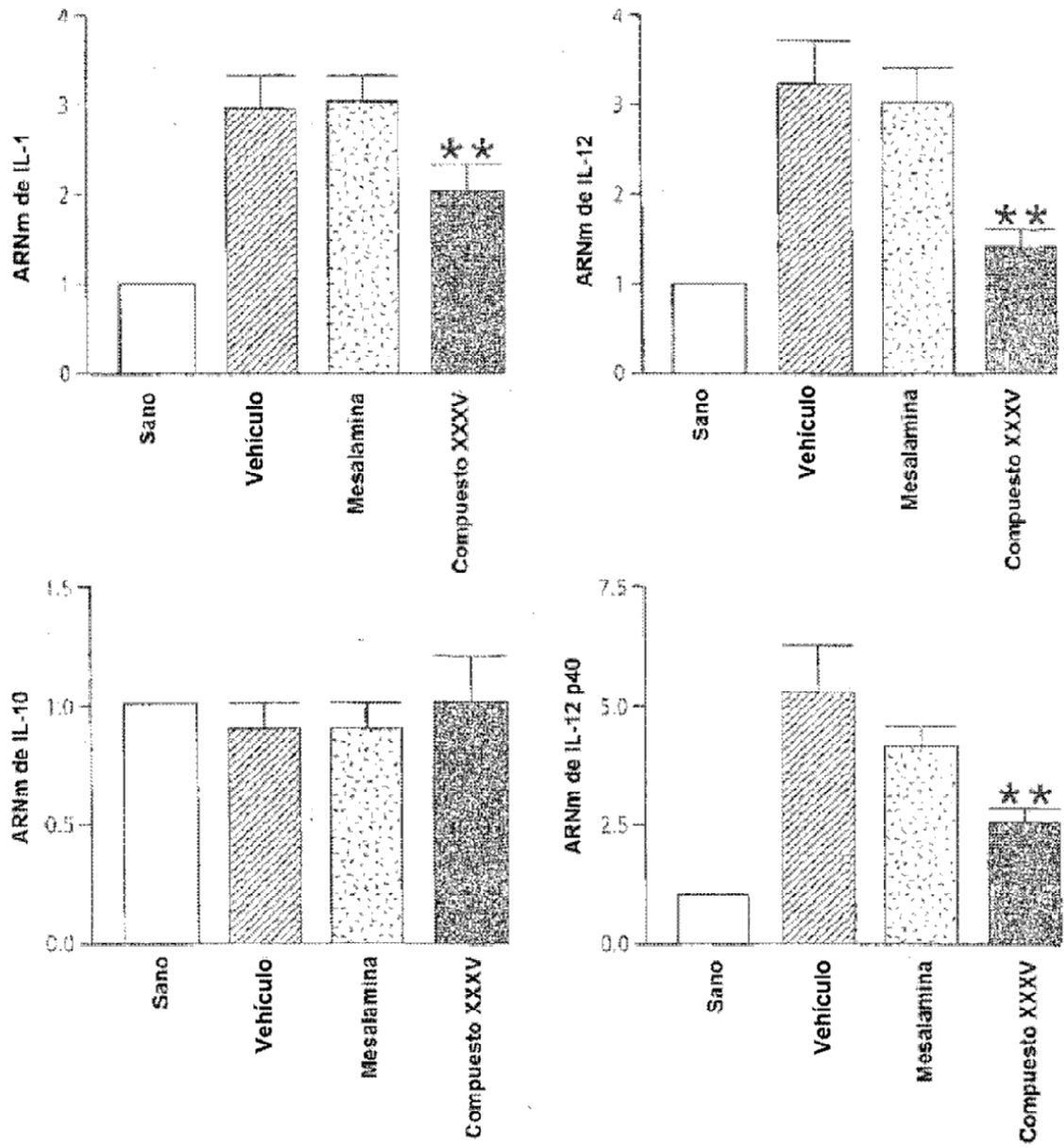
FIGURA 10



\*p<0,05

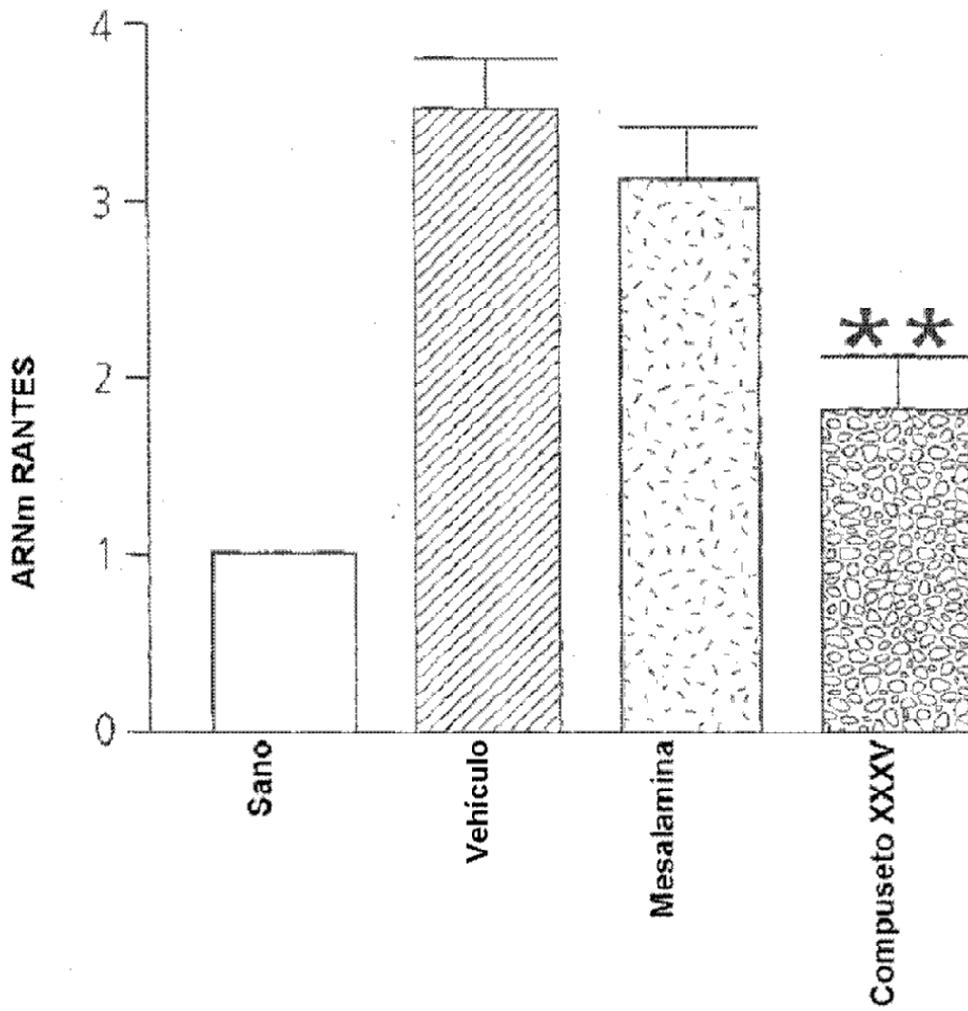


FIGURA 11



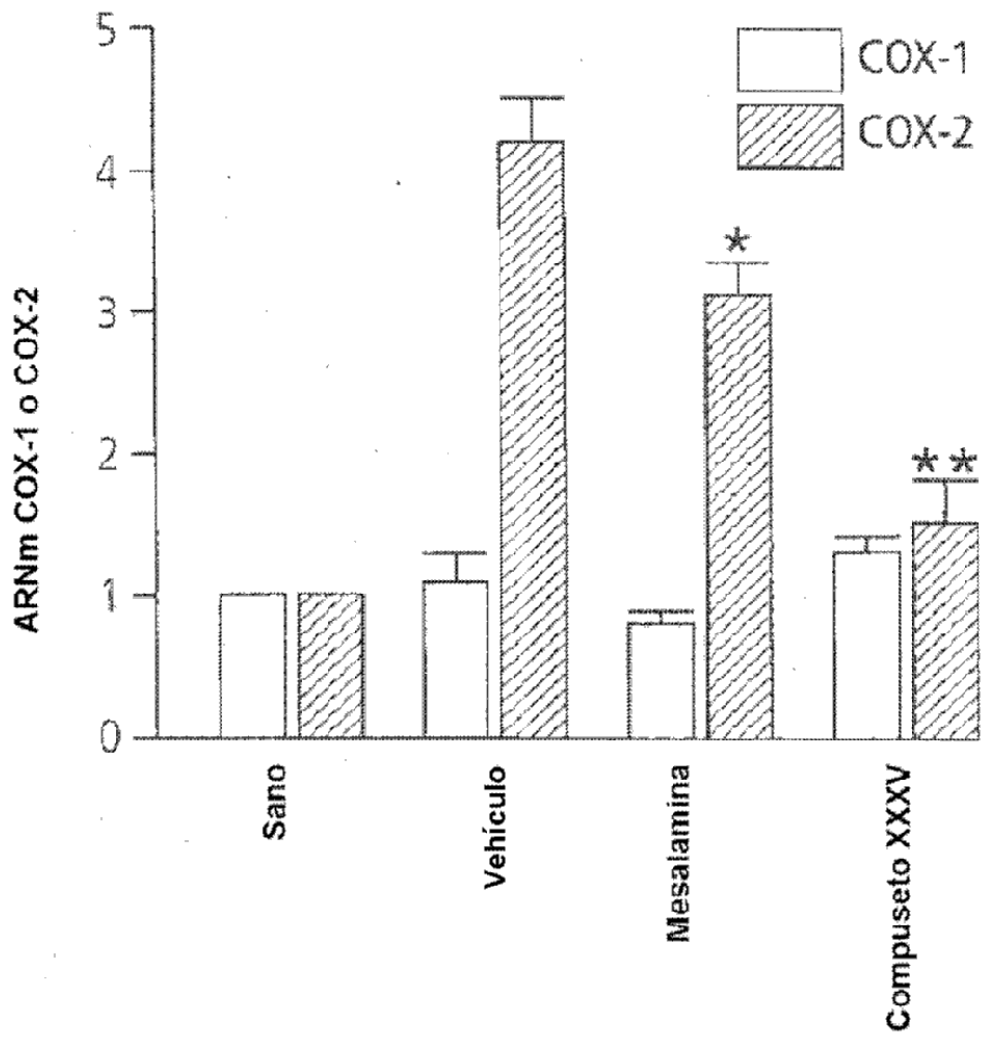
\*\*p<0.01

FIGURA 12



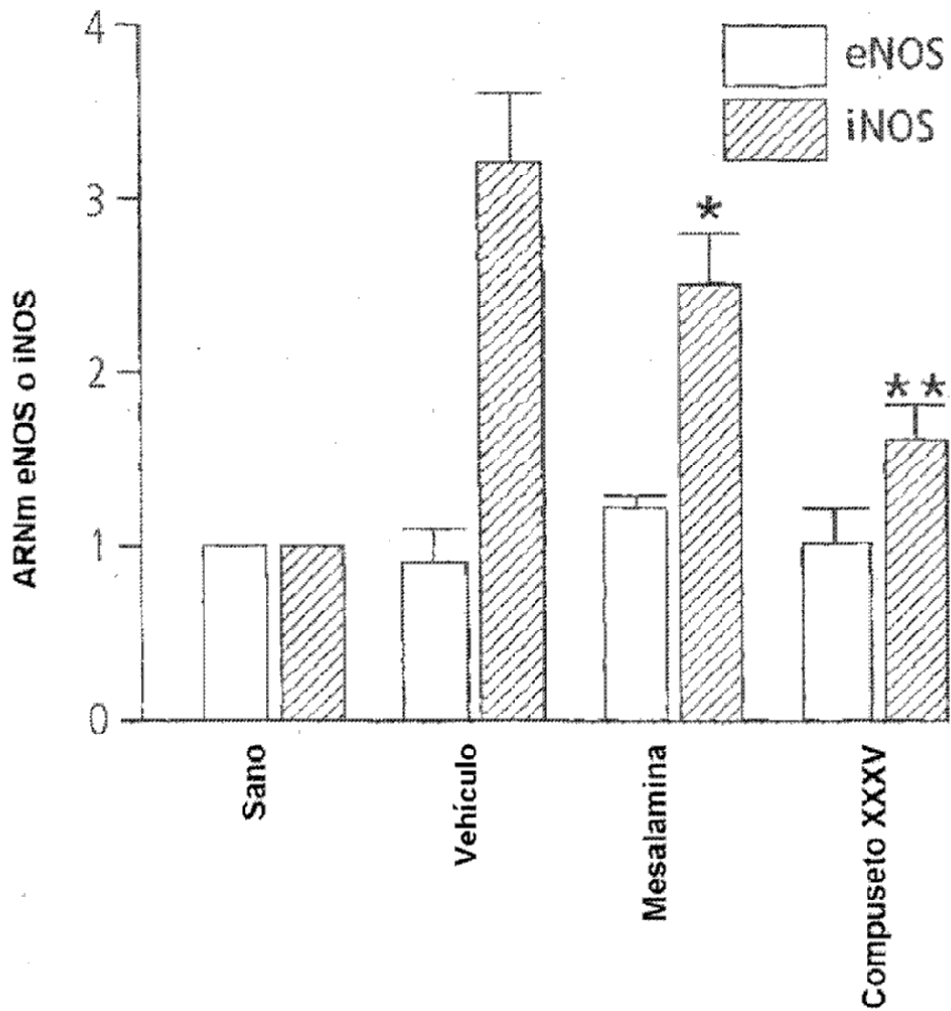
\*\*p<0,01

FIGURA 13



\*p<0,05, \*\*p<0,01

FIGURA 14



\*p<0,05, \*\*p<0,01

Fig. 15(a)

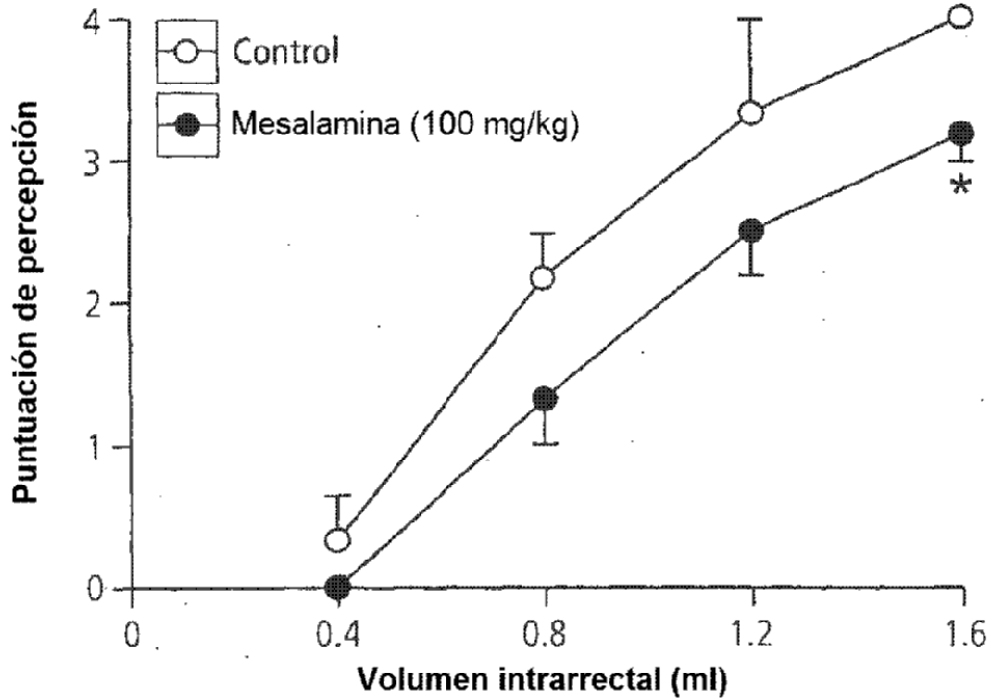
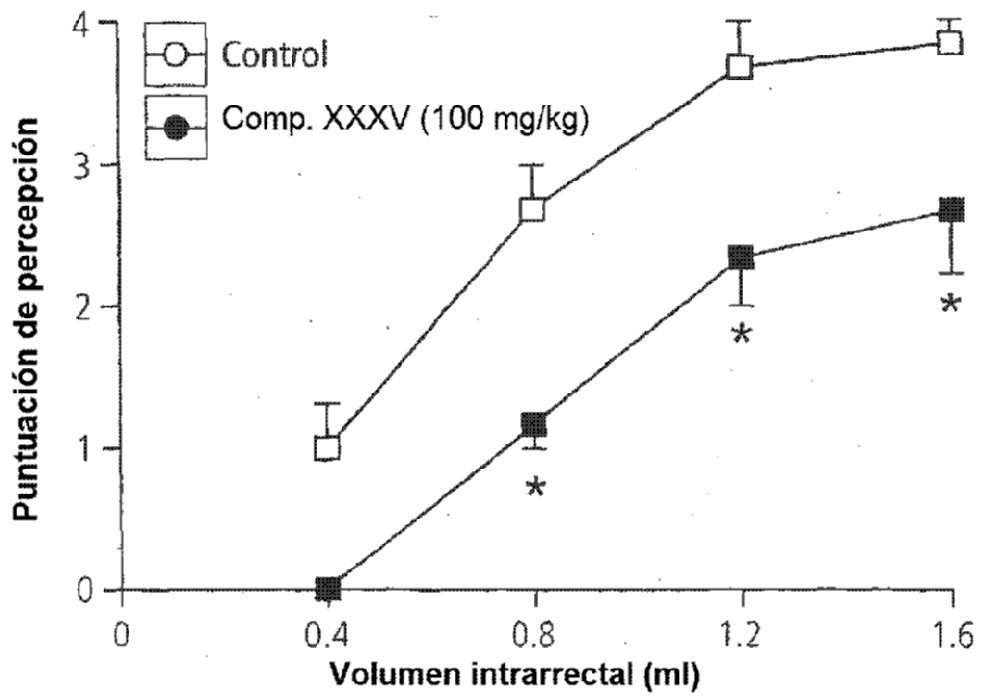


Fig. 15(b)



\*p<0,05

Fig. 16(a)

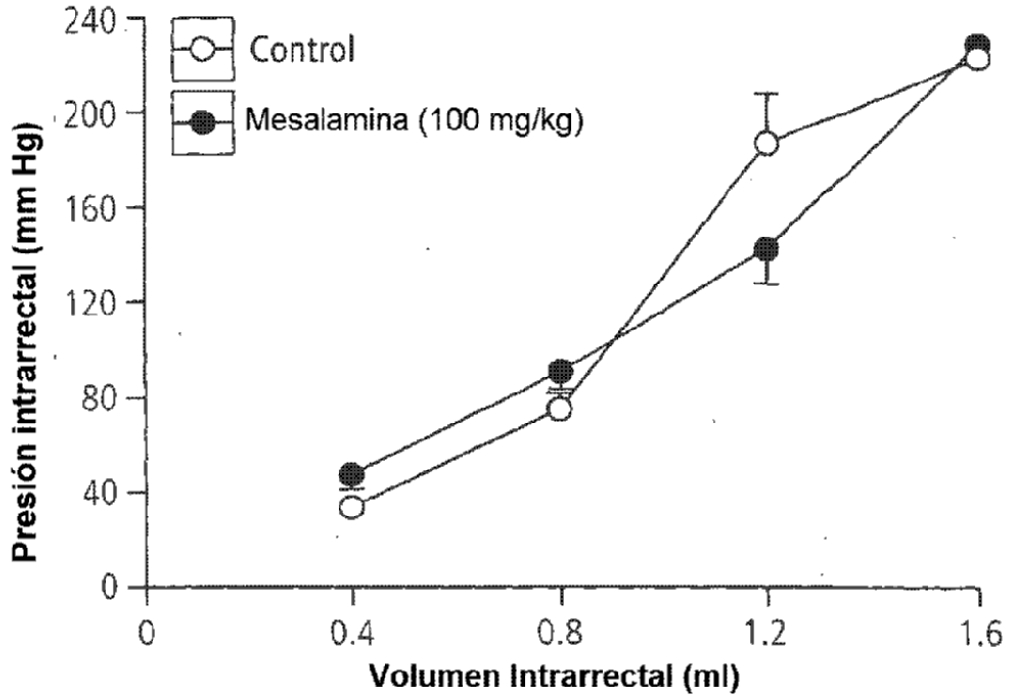
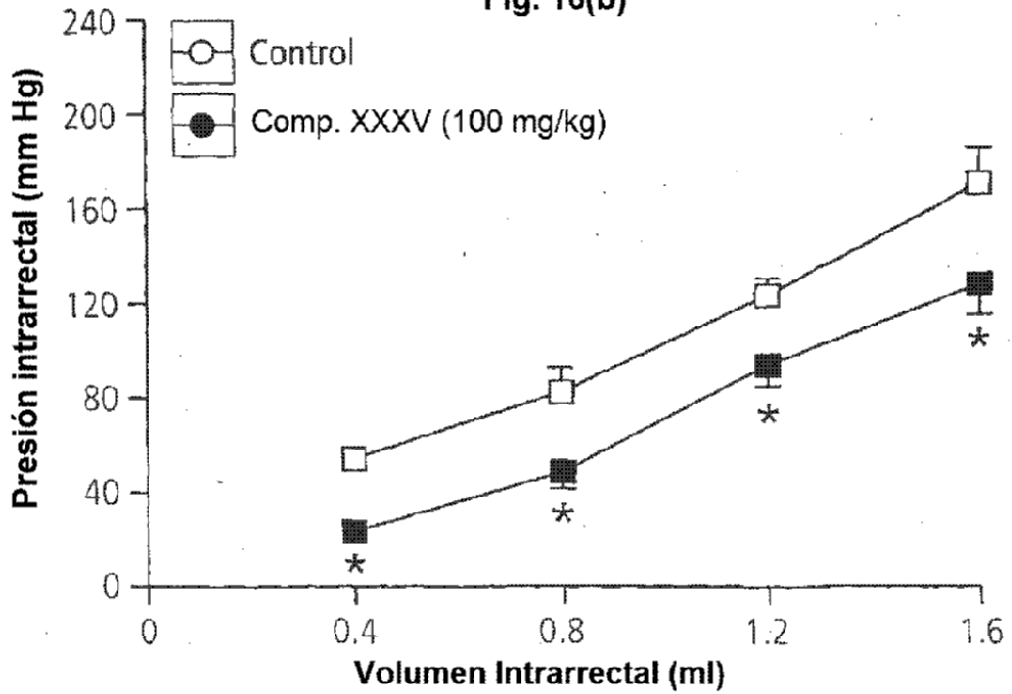


Fig. 16(b)



\*p<0,05

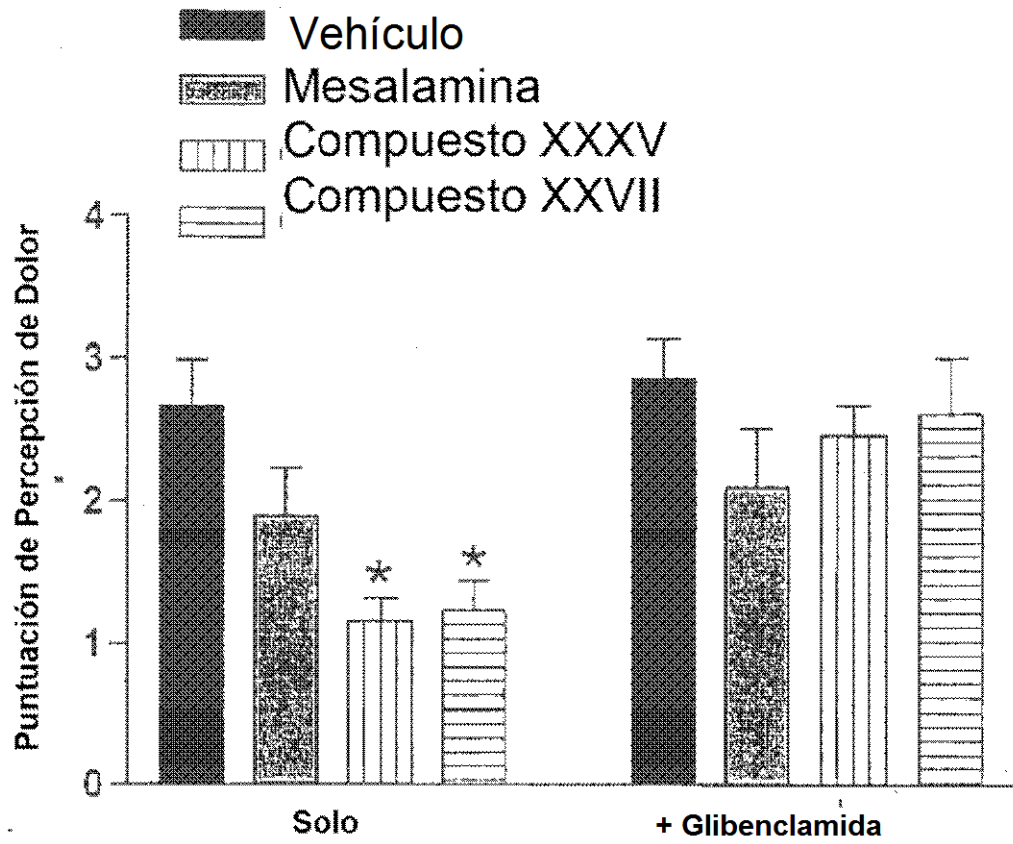


FIGURA 17

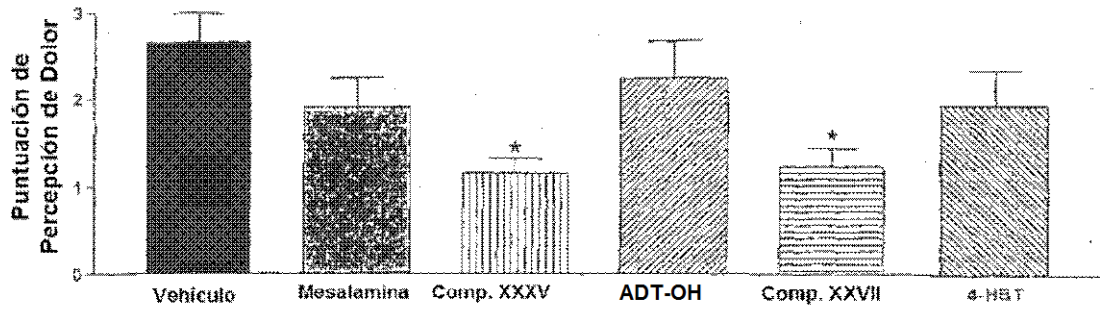


FIGURA 18



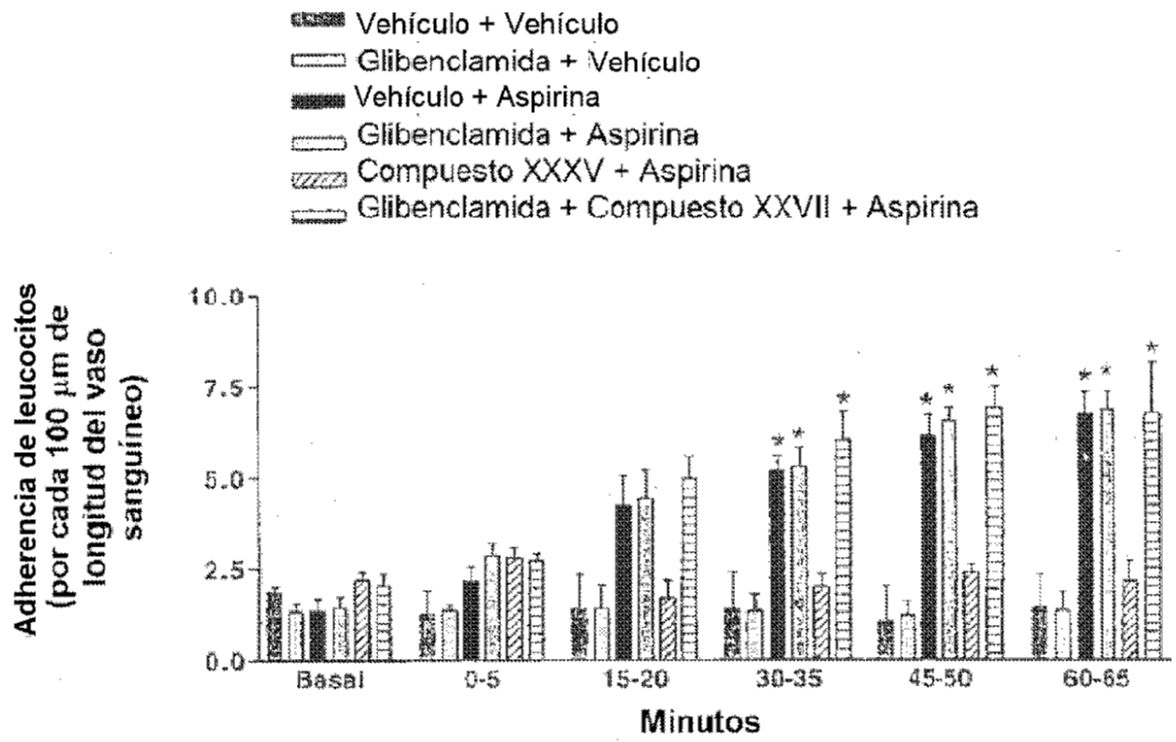


FIGURA 19

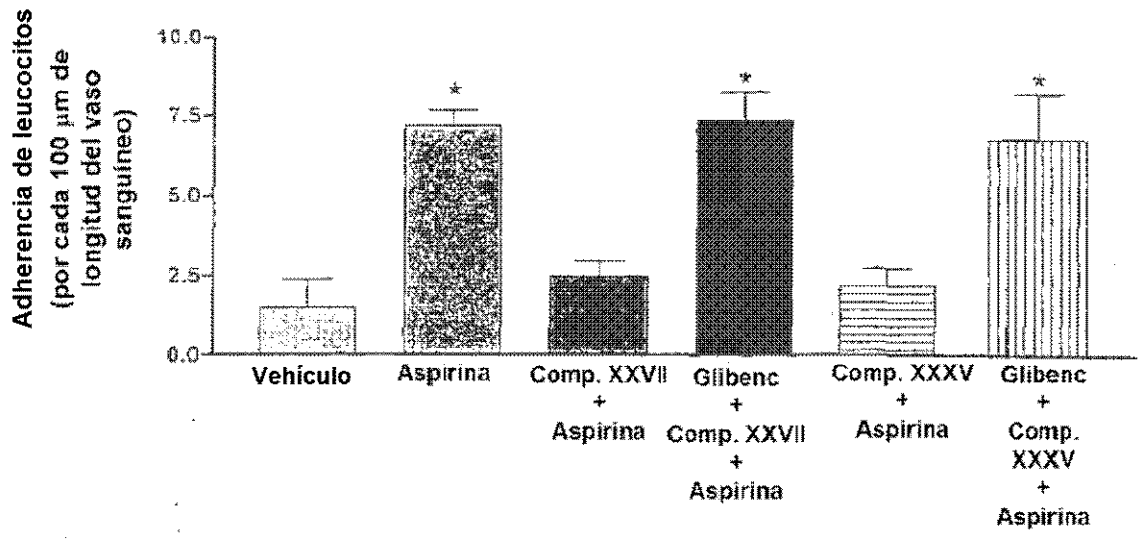


FIGURA 20

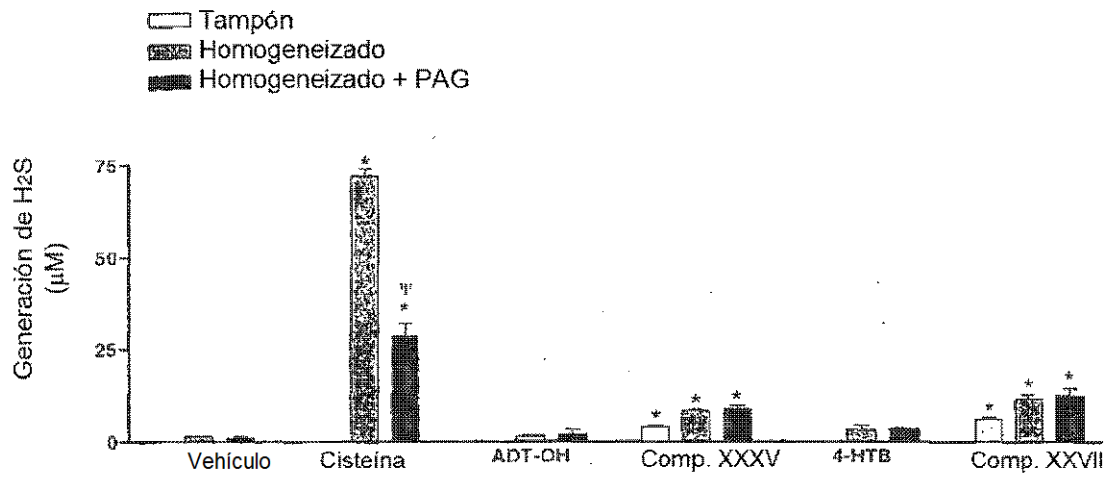


FIGURA 21

FIGURA 22

