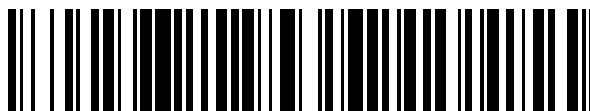


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 382 673**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/506** (2006.01)  
**A61P 1/04** (2006.01)  
**C07D 403/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07737060 .9**  
96 Fecha de presentación: **12.04.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2005962**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.12.2008**

54 Título: **Agente terapéutico para la enfermedad inflamatoria intestinal**

30 Prioridad:  
**13.04.2006 JP 2006110869**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**12.06.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**12.06.2012**

73 Titular/es:  
**TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.  
1-27 KANDANISHIKI-CHO CHIYODA-KU  
TOKYO 1018444, JP**

72 Inventor/es:  
**TAKEBAYASHI, Yuji**

74 Agente/Representante:  
**Ungría López, Javier**

ES 2 382 673 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Agente Terapéutico para la Enfermedad Inflamatoria Intestinal

**5 Campo Técnico**

La presente invención se refiere a un agente terapéutico para la enfermedad inflamatoria intestinal.

**Técnica Anterior**

10 La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es una enfermedad idiopática incurable en la que se ocasiona la inflamación crónica o la ulceración en la membrana mucosa de los intestinos grueso y delgado, y la diarrea o deposiciones sanguinolentas se prolongan durante un largo período con recurrencia repetida. Esta enfermedad ha sido designada como una de las enfermedades especificadas en Japón, y se emite un certificado de asistencia

15 médica para cada paciente en el proyecto de investigación de la enfermedad. La EII incluye dos tipos principales de enfermedades, es decir, la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU). La enfermedad de Crohn, que también se denomina enteritis regional, ileítis granulomatosa o ileocolitis, es una inflamación crónica desarrollada en la pared intestinal, o incluso en cualquier sitio del tracto digestivo. La colitis ulcerosa es una enfermedad crónica en la que la inflamación se produce en el intestino grueso para producir una

20 úlcera, dando como resultado diarrea sanguinolenta, dolor abdominal severo, o un ataque acompañado de fiebre. El número de pacientes de las dos enfermedades está aumentando en Japón aunque no son superiores a los de Europa o Estados Unidos. En particular, el número de pacientes era de alrededor de 73.000 (en el año 2001) para la colitis ulcerosa, y de alrededor de 21.000 (en el año 2001) para la enfermedad de Crohn. Por otra parte, el número de certificados de atención médica expedidos para la colitis ulcerosa se ubicó en el primer lugar, y el número

25 expedido para la enfermedad de Crohn se ubicó en el octavo lugar entre las 46 enfermedades especificadas.

Puesto que la causa de la enfermedad inflamatoria intestinal es desconocida como se ha descrito anteriormente, los agentes terapéuticos convencionales para la diarrea y similares no son eficaces. Para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, se han utilizado ampliamente en el pasado preparaciones de ácido

30 aminosalicílico (sulfasalazina, ácido 5-aminosalicílico) y preparaciones de corticosteroides como fármacos de primera línea y segunda línea. Además, en un caso grave, se han utilizado inmunosupresores (azatioprina, 6-mercaptopurina, y similares), y preparaciones anti-citoquinas. La sulfasalazina y el ácido 5-aminosalicílico se utilizan ampliamente en forma de una preparación de ácido aminosalicílico, sin embargo, en aproximadamente 50% de los

35 pacientes a los que se han administrado los mismos, causan trastornos en órganos digestivos tales como náuseas, vómitos, anorexia y trastornos de la función hepática, y trastornos del sistema sanguíneo, tales como agranulocitosis, anemia hemolítica y anemia por deficiencia de ácido fólico. Por otra parte, puesto que tienen el esqueleto de ácido salicílico, que es probable que se manifiesten efectos adversos en caso de que se presenten reacción hipersensible a fármacos basados en el ácido salicílico, y pueden causar diarrea, dolor abdominal, aumento de la amilasa, trastornos renales y similares. La sulfasalazina puede causar efectos adversos tales como infertilidad

40 masculina y coloración de la orina, que pueden llegar a producir también un gran estrés mental a los pacientes. Las preparaciones con corticosteroides tienen varios efectos adversos, tales como osteoporosis, deterioro del crecimiento, insuficiencia suprarrenal secundaria, intolerancia a la glucosa, e hipertensión. Por otra parte, también tienen el problema de que no tienen los efectos de mantenimiento de la remisión de la EC y CU. Por otro lado, la terapia anti-citoquina es nueva y totalmente diferente de las convencionales, y el fármaco que salió primero es el

45 infliximab que es un anticuerpo monoclonal anti-TNF- $\alpha$  humano quimérico. Se ha informado de que es eficaz para los pacientes con enfermedad de Crohn que tienen resistencia a los esteroides clasificada como de moderada a grave (Documento no de Patente 1), y que también es eficaz para mantener la remisión (Documento no de Patente 2). Se conocen efectos adversos del mismo, tales como hipertensión, náuseas, erupción cutánea, fiebre, dolor de cabeza, y eczema. Además, puesto que el infliximab es un anticuerpo quimérico, puede mostrar antigenicidad y, a veces causar una reacción ultra-hipersensible aguda. Además, recientemente, las infecciones que necesitan

50 antibióticos o la carcinogenicidad se vuelven problemáticas.

El documento WO/9737674 describe un método alternativo para el tratamiento de la colitis ulcerosa que utiliza una sustancia que se aisló a partir de semillas germinadas de una planta de la familia de las gramíneas y que contiene proteínas y fibras dietéticas insolubles.

55 [Documento no de Patentes 1] N. Engl. J. Med., Vol. 337, página 1029, 1997

[Documento no de Patentes 2] Gastroenterology, vol. 117, página 761, 1999

**Descripción de la Invención****Problemas a Resolver por la Invención**

60 El objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo agente terapéutico para la enfermedad inflamatoria intestinal.

### Medios para Resolver los Problemas

El autor de la presente invención ha investigado los efectos terapéuticos de diversos compuestos sobre la enfermedad inflamatoria intestinal utilizando modelos de EII inducida por ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico (TNBS) e inducida por sulfato de dextrano sódico (DSS), que se conocen como modelos para la enfermedad inflamatoria intestinal. Como resultado, el autor de la presente invención ha encontrado inesperadamente que el hidrocloreto de 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona [Compuesto (1)], que se sabe que tiene acciones potenciadoras de efectos antitumorales, acciones inhibitorias sobre la metástasis del cáncer, y acciones que alivian los efectos adversos de agentes anti-tumorales, tiene excelentes efectos terapéuticos en la enfermedad inflamatoria intestinal, por lo que completó la presente invención.

En otras palabras, la presente invención proporciona un agente terapéutico para su uso en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal que contiene 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona [compuesto (I)] o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como ingrediente activo.

La presente invención también proporciona el uso de 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un agente terapéutico para la enfermedad inflamatoria intestinal.

### Efectos de la Invención

De acuerdo con la presente invención, se puede proporcionar un agente terapéutico eficaz y seguro para la enfermedad inflamatoria intestinal, incluyendo colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. El equilibrio entre el efecto terapéutico sobre una inflamación crónica como la enfermedad inflamatoria intestinal y el efecto secundario adverso del Compuesto (1) es superior a los de una preparación de ácido aminosalicílico y una preparación de corticosteroide, que no se puede esperar en absoluto de un mero efecto anti-diarreico.

### Breve Descripción de los Dibujos

La Fig. 1 es una figura de una tinción HE que muestra una acción inhibitoria de la inflamación mediante la administración del Compuesto (1) en ratón con colitis inducida por TNBS.

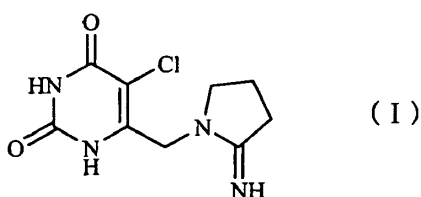
La Fig. 2 muestra el índice de inflamación en ratón con colitis inducida por TNBS.

La Fig. 3 muestra una acción inhibitoria de la apoptosis en células epiteliales intestinales mediante la administración del Compuesto (1) en ratón con colitis inducida por TNBS.

La Fig. 4 muestra la tasa de inducción de apoptosis en ratón con colitis inducida por TNBS.

### Mejor modo de llevar a cabo la invención

La 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona, que se utiliza como un ingrediente activo en la presente invención, es un compuesto representado por la siguiente fórmula (I).



Se sabe que el Compuesto (I), que es un compuesto conocido, tienen acciones farmacológicas tales como acciones potenciadoras sobre efectos antitumorales (documento WO/9630346), acción inhibitoria de la metástasis del cáncer (documento WO/9813045), y acciones mitigadoras de los efectos adversos de los agentes anti-tumorales (documento JP-A-2000-273044). Sin embargo, no se conocía ninguna acción del Compuesto (I) sobre la enfermedad inflamatoria intestinal.

La sal farmacéuticamente aceptable del compuesto (I) no está particularmente limitada, sin embargo, se prefiere una sal de adición de ácido, en la que se añade un ácido farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de la sal de adición de ácido incluyen una sal con un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, o ácido bromhídrico, y una sal con un ácido orgánico tal como ácido oxálico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético, ácido p-toluenosulfónico, o ácido metanosulfónico. De éstas, se prefiere una sal con ácido clorhídrico o ácido p-toluenosulfónico. Los ejemplos específicos particularmente preferidos del Compuesto (I) o una de sus sales son hidrocloreto de 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4 (1H, 3H)-pirimidinodiona y

sal de ácido p-toluenosulfónico de 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)-2,4(1H, 3H)-pirimidinodiona.

El Compuesto (I) o una sal del mismo tienen excelentes acciones anti-inflamatorias y acciones inhibitorias de la apoptosis en células epiteliales intestinales en un modelo de EII inducida por TNBS o inducida por DSS que es conocido como un modelo para la enfermedad inflamatoria intestinal, como se muestra a continuación en los Ejemplos. Tales efectos terapéuticos son superiores a los de una preparación de corticosteroide, que se ha utilizado convencionalmente para la EII. Además, el Compuesto (I) o una sal del mismo tienen una alta seguridad, y son útiles como agente terapéutico novedoso para la enfermedad inflamatoria intestinal si se considera el hecho de que los agentes terapéuticos convencionales para la enfermedad inflamatoria intestinal tienen los problemas de los numerosos efectos adversos.

Aunque el Compuesto (I) o una sal del mismo se conocen como inhibidores de la timidina fosforilasa, la timidina fosforilasa no es expresada sustancialmente en el tracto digestivo de roedores tales como ratones y ratas que se han utilizado en los Ejemplos. Por lo tanto, apenas se considera que el Compuesto (I) ejerce los efectos terapéuticos sobre la enfermedad inflamatoria intestinal simplemente por las acciones inhibitorias de la timidina fosforilasa. Además, aunque también se sabe que el Compuesto (I) tiene efectos inhibitorios sobre la diarrea causada por agentes anti-tumorales, esto sólo describe los efectos inhibitorios sobre el daño celular por los agentes anti-tumorales. Así, a partir de estos hallazgos, no se pueden esperar en absoluto efectos terapéuticos sobre las enfermedades inflamatorias crónicas como en la presente invención. Además, puesto que se sabe que la timidina fosforilasa induce angiogénesis por medio de la actividad como PD-ECGF, se ha informado de que se utiliza un inhibidor de la timidina fosforilasa como inhibidor de la metástasis del cáncer por las acciones inhibitorias de la angiogénesis. Sin embargo, se desconoce que el inhibidor de la timidina fosforilasa sea útil como agente terapéutico para la enfermedad inflamatoria intestinal.

La enfermedad de interés en la presente invención incluye una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la colitis colágena, la colitis linfocítica y la colitis por derivación, en particular, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa.

El Compuesto (I) o una sal del mismo pueden ser formulados en diversas formas de dosificación, respectivamente, y administrados.

Cuando el medicamento de acuerdo con la presente invención se usa como un agente terapéutico para la EII en mamíferos, incluyendo seres humanos, se puede formular en diversas formas de dosificación farmacéutica dependiendo de la finalidad terapéutica. En particular, los ejemplos de la forma incluyen agentes orales tales como comprimidos, comprimidos recubiertos, píldoras, polvos, gránulos, cápsulas, soluciones, suspensiones y emulsiones; y agentes parenterales tales como inyectables, y supositorios. Las preparaciones antes mencionadas se pueden fabricar con un portador farmacéuticamente aceptable de acuerdo con métodos comúnmente utilizados para la formulación. Los comprimidos se pueden preparar utilizando, como portadores, por ejemplo, excipientes tales como lactosa, sacarosa, cloruro sódico, glucosa, urea, almidón, carbonato de calcio, caolín, celulosa cristalina y ácido silícico; aglutinantes tales como agua, etanol, propanol, almidón de maíz, jarabe simple, solución de glucosa, solución de almidón, solución de gelatina, carboximetilcelulosa, goma laca, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, fosfato de potasio, y polivinilpirrolidona; disgregantes tales como almidón seco, alginato sódico, polvo de agar, polvo de laminaria, bicarbonato de sodio, carbonato de calcio, ésteres de ácidos grasos y polioxietilensorbitán, laurilsulfato de sodio, monoglicérido de ácido esteárico, y lactosa; agentes supresores de la disgregación tales como sacarosa, ácido esteárico, manteca de cacao y aceite hidrogenado; potenciadores de la absorción tales como una sal de amonio cuaternario y laurilsulfato de sodio; humectantes tales como glicerol y almidón; adsorbentes tales como almidón, lactosa, caolín, bentonita y ácido silícico coloidal; y lubricantes tales como talco purificado, una sal de ácido esteárico, polvo de ácido bórico y polietilenglicol. Además, los comprimidos se pueden preparar opcionalmente en forma de comprimidos con un revestimiento ordinario tal como comprimidos recubiertos de azúcar, comprimidos con gelatina de protección, comprimidos con revestimiento entérico, comprimidos de doble capa, y comprimidos de múltiples capas. Las píldoras se pueden preparar mediante la utilización, como portadores, por ejemplo, de excipientes tales como glucosa, lactosa, almidón, aceite de cacao, aceite vegetal endurecido, caolín, y talco; aglutinantes tales como polvo de acacia, polvo de tragacanto, gelatina y etanol; disgregantes tales como polvo de laminaria y polvo de agar y similares. Las cápsulas se pueden fabricar de acuerdo con métodos ordinarios mezclando con los diversos portadores anteriormente ilustrados y a continuación cargando la mezcla en cápsulas de gelatina dura, cápsulas blandas o similares. Cuando se forman preparaciones líquidas orales, se pueden elaborar soluciones, jarabes, elixires y similares administrables por vía oral por medio de un método ordinario utilizando agentes correctores del sabor, agentes tamponadores, estabilizantes, agentes correctores de olor y similares. En las preparaciones anteriores, los ejemplos de los agentes correctores del sabor incluyen sacarosa, piel de naranja amarga, ácido cítrico, ácido tartárico y similares, los ejemplos de los agentes tamponadores incluyen citrato de sodio y similares, y ejemplos de los estabilizantes incluyen tragacanto, goma arábiga, gelatina y similares. Los supositorios pueden ser preparados utilizando, como portadores, por ejemplo, polietilenglicol, manteca de cacao, alcoholes superiores, ésteres de alcoholes superiores, gelatina, glicéridos semisintéticos, y similares. En la preparación de inyectables, se prefiere que la solución, la emulsión y la suspensión se esterilicen, y se hagan adicionalmente isotónicas con respecto a la sangre. Como diluyentes usados en estas

5 preparaciones, se pueden utilizar agua, una solución acuosa de ácido láctico, alcohol etílico, propilenglicol, macrogol, alcohol isoestearílico etoxilado, alcohol isoestearílico polioxietilenado, ésteres de ácidos grasos y polioxietilensorbitán, y similares. En tales casos, se pueden utilizar solución salina, glucosa o glicerina en la preparación farmacéutica en una cantidad suficiente para preparar una solución isotónica. Además, se pueden añadir solubilizantes, tampones, agentes analgésicos, y similares. Además, a las preparaciones anteriormente mencionadas se les pueden añadir opcionalmente colorantes, conservantes, perfumes, agentes aromatizantes, agentes edulcorantes y similares, u otros fármacos. La cantidad de compuesto (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo contenida en la preparación farmacéutica de la presente invención, no está particularmente limitada, pero se puede seleccionar adecuadamente, preferiblemente normalmente de 0,01 a 70% en peso de la preparación farmacéutica.

15 El método de administración del medicamento de la presente invención no está particularmente limitado, pero se determina adecuadamente en función de las formas de dosificación, la edad, el sexo y otras condiciones del paciente, la gravedad de los síntomas del paciente, y similares. Por ejemplo, los comprimidos, las píldoras, los polvos, los gránulos, las cápsulas, las soluciones, las suspensiones y las emulsiones se administran oralmente. Los inyectables se administran por vía intravenosa solas o combinadas con un líquido de reposición habitual tal como glucosa, aminoácidos, y similares, y adicionalmente si fuera necesario, se administran solos intraarterialmente, intramuscularmente, intracutáneamente, subcutáneamente o intraperitonealmente. Los supositorios se administran intrarectalmente.

20 La dosis del ingrediente activo del medicamento de la presente invención puede seleccionarse adecuadamente dependiendo del régimen de dosificación, la edad, el sexo y otras condiciones del paciente, la gravedad de la enfermedad, y similares. La dosis del Compuesto (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es generalmente de alrededor de 0,01 a 1000 mg/kg/día, preferiblemente de alrededor de 0,1 a 100 mg/kg/día. Además, la preparación de la presente invención se puede administrar una vez al día o en 2 a 4 dosis divididas por día.

**Ejemplos**

30 La presente invención se describirá a continuación con más detalle por medio de ejemplos

Ejemplo de Formulación 1	
Compuesto (1)	25,0 mg
Lactosa	8,0 mg
Celulosa cristalina	4,0 mg
Estearato de magnesio	1,0 mg
Talco	1,0 mg
Almidón de maíz	3,5 mg
Hidroxipropilmetilcelulosa	2,5 mg
Por 1 comprimido	45,0 mg

35 Se preparó un comprimido de una manera convencional de acuerdo con la formulación anterior.

Ejemplo de Formulación 2	
Compuesto (1)	50,0 mg
Lactosa	85,0 mg
Almidón de maíz	100,0 mg
Hidroxipropilmetilcelulosa	3,0 mg
Por Paquete	238,0 mg

Los gránulos se prepararon de una manera convencional de acuerdo con la formulación anterior.

Ejemplo de formulación 3	
Compuesto (1)	50,0 mg
Lactosa	24,0 mg
Celulosa cristalina	13,0 mg
Estearato de magnesio	1,0 mg
Por cápsula	88,0 mg

Se preparó una cápsula de una manera convencional de acuerdo con la formulación anterior.

Ejemplo de Formulación 4 Inyectable	
Compuesto (1)	50,0 mg
El agua destilada para inyectables	cs
Por ampolla	5 ml

- 5 Se preparó una ampolla de una manera convencional de acuerdo con la formulación anterior por ampolla.

Ejemplo de formulación 5 Supositorio	
Compuesto (1)	100,0 mg
Witepsol W-35	1400,0 mg
(Nombre comercial, producto de Dynamit Nobel AG)	
Por supositorio	1500,0 mg

Se preparó un supositorio de una manera convencional de acuerdo con la formulación anterior por supositorio.

#### 10 **Ejemplo 1 (Acciones en el modelo de EII inducida por TNBS)**

En este ensayo, el Compuesto (1) (50 mg/kg) se administró oralmente cada día a un ratón con colitis Inducida por TNBS, que es un modelo de enfermedad de Crohn de acuerdo con el método descrito en Biochemical and Biophysical Research Communications, 329, (2005), 1217-1224, y se evaluaron sus acciones anti-inflamatorias.

- 15 Diez ratones BALB/c (Japan SLC, Inc.) macho de 8 semanas de edad por grupo se mantuvieron en ayunas durante 24 horas, y se anestesiaron con éter dietílico. Se infundieron intrainestinalmente a los ratones 2,0 g de TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenzeno-sulfónico) (Tokio Chemical Industry Co., LTD.) diluido en 1 ml de etanol del 50% con un catéter fabricado de vinilo insertado 2,5 cm desde el recto. Los ratones se sujetaron por la cola durante 30 segundos después de la perfusión intestinal para evitar la fuga inmediata de la solución de TNBS infundida por el recto. En el grupo de control, se infundió intrainestinalmente a los ratones 1 ml de solución salina fisiológica en lugar de TNBS. Todos los ratones se sacrificaron con dióxido de carbono 7 días después de la infusión intestinal de TNBS o de solución salina fisiológica, y se diseccionaron. En el grupo de administración de Compuesto (1), el Compuesto (1) (50 mg/kg) se administró oralmente cada día desde el día anterior a la infusión intestinal de TNBS. En el grupo de control y el grupo en el que no se había administrado Compuesto (1), se administró el agua potable por vía oral todos los días desde el día anterior a la perfusión intestinal. Después de la terminación del período de administración, los intestinos gruesos extraídos de los ratones se cortaron cada 1 cm en la dirección del eje horizontal, y se fijaron en formalina al 10%, seguido de embebimiento en parafina para realizar la tinción HE. Basándose en la puntuación histológica (Tabla 1), la observación de la inflamación se convirtió en números.

- 30 Con la infusión intestinal de TNBS, apareció infiltración de células inflamatorias o desprendimiento de la membrana mucosa en comparación con el control en el que se infundió solución salina fisiológica intrainestinalmente (Figura 1). En el grupo al que se habían administrado 2,0 mg de TNBS, se observaron infiltración transmural de células inflamatorias, desprendimiento de la membrana mucosa en el amplio intervalo, alto grado de edema, y pérdida de criptas, mientras que el rango y el grado de inflamación fueron leves en el grupo al que se había administrado el Compuesto (1) (Figura 1), a pesar de la infiltración de células inflamatorias y el desprendimiento de la membrana mucosa. Mediante la utilización de la puntuación histológica (Tabla 1), el grado de inflamación fue convertido en números, y se investigó en comparación entre el grupo al que se había administrado el Compuesto (1) y el grupo al que no se había administrado el compuesto (1) (Figura 2). Las puntuaciones disminuyeron significativamente en el grupo al que se había administrado el Compuesto (1) en comparación con el grupo al que no se había administrado el compuesto (1) (TNBS 2,0 mg:  $15,0 \pm 1,2$  puntos, TNBS + Compuesto (1):  $9,8 \pm 2,1$  puntos).

[Tabla 1]

Puntuación histológica	
Extensión de la inflamación	0 = normal, 1 = <10%, 2 = 10%, 3 = 10%-50%, 4 = >50%
Profundidad de la úlcera	0 = sin úlcera, 1 = participación de la mucosa, 2 = participación de mucosa + submucosa
	3 = penetración de la muscular propia, 4 = participación de todo el espesor
Infiltración de células inflamatorias	0 = normal, 1 = débil, 2 = moderada, 3 = severa
Edema	0 = normal, 1 = débil, 2 = moderado, 3 = severo
Pérdida de Criptas	0 = normal, 1 = <10%, 2 = 10%, 3 = 10% - 50%, 4 = >50%
Ubicación de la fibrosis	0 = normal, 1 = sólo mucosa, 2 = mucosa + submucosa
	3 = incluyendo capa muscular, 4 = fibrosis de espesor completo
	La puntuación oscila de 0 a un máximo de 22 puntos

### Ejemplo 2 (Inhibición de la apoptosis de las células epiteliales del intestino grueso en la colitis inducida por TNBS)

5 Intestino grueso afectado por colitis inducida por TNBS fue sometido a la tinción de Giemsa para teñir el núcleo, y se investigó la apoptosis de las células epiteliales intestinales (Figura 3). Las células que muestran contracción de la célula o fragmentación del núcleo se tomaron como células apoptóticas. Se observaron 1000 células en cada segmento al microscopio, y se calculó la proporción de células apoptóticas (tasa de inducción de la apoptosis) (Figura 4). Se demostró que la administración del Compuesto (1) inhibía significativamente la apoptosis de las células epiteliales intestinales en la colitis inducida por TNBS (TNBS:  $40,0 \pm 3,0\%$ , TNBS + Compuesto (1):  $26,0 \pm 5,0\%$ ).

### Ejemplo 3 (Acciones de mejora de las condiciones clínicas en el modelo de EII inducida por DSS)

15 Esta prueba se realizó de acuerdo con el método descrito en PEDIATRIC RESEARCH, vol. 53, Núm. 1, 143 a 147, 2003. En particular, los ratones (6-semanas de edad, C57BL/6N JCL, CLEA Japan, Inc.) se dividieron en grupos de ocho ratones cada uno de manera que el peso corporal medio fuera el mismo en cada grupo en el Día 0. El sulfato de dextrano sódico (en lo sucesivo, el DSS, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) se disolvió en agua purificada y se ajustó a 3% p/v, y se permitió que los ratones bebieran libremente de la solución de la botella de suministro de agua durante 5 días (Día 0 a Día 4), para preparar de ese modo el modelo de colitis ulcerosa. Se establecieron los siguientes grupos experimentales: grupo al que no se administró ningún fármaco (control), grupo al que se administraron 100 mg/kg/día de Compuesto (1), y grupo al que se administraron 100 mg/kg/día de ácido 5-aminosalicílico (en lo sucesivo, 5-ASA) y grupo al que se administraron 5 mg/kg/día de prednisolona como grupos a los que se administraban fármacos comparativos (donde, la dosificación del fármaco comparativo fue una dosis farmacológicamente eficaz). Además, no se estableció ningún grupo de tratamiento en el cual se utilizara agua purificada para beber en lugar de solución acuosa de DSS al 3%. Cada fármaco se administró a partir de los 4 días del inicio de la toma de la solución acuosa de DSS al 3% durante 7 días (Día 4 a Día 10). La determinación se realizó al día siguiente de la última administración de cada medicamento (Día 11). Como índice de evaluación, se midieron la longitud del intestino grueso y la tasa de cambio de peso corporal desde el primer día de la prueba (Día 0) y el último día de la prueba (Día 11).

25 La longitud del intestino grueso en el grupo control en el día determinación fue de 73,4% con respecto a la del grupo sin tratamiento, que mostró una contracción significativa. Las longitudes del intestino grueso en el grupo al que se administró el Compuesto (1) y el grupo al que se administró prednisolona fueron de 88,6% y 93,2%, respectivamente, con respecto a las del grupo sin tratamiento. Tales longitudes del intestino grueso fueron

significativamente más grandes, respectivamente, que la del grupo control, mostrando mejora de las condiciones clínicas. La longitud del intestino grueso en el grupo al que se administró 5-ASA fue de 80,3% con respecto a la del grupo de control, no mostrando una diferencia significativa, a pesar de la tendencia a mejorar la contracción del intestino grueso.

5 Por otro lado, con respecto a la tasa de cambio de peso corporal desde el primer día de la prueba al día de la determinación, el grupo de control tuvo una pérdida de peso de  $1,7 \pm 1,8\%$ , mientras que el grupo al que se administró el Compuesto (1) tuvo una ligera ganancia peso de  $0,4 \pm 1,2\%$ . Sin embargo, el grupo al que se administró prednisolona y grupo al que se administró 5-ASA tuvieron pérdidas de peso de  $3,9 \pm 1,0\%$  y  $5,0 \pm 0,3\%$ , respectivamente, que fueron superiores a la del grupo control y se supuso que eran debidas a los efectos adversos de los fármacos.

15 Estos resultados sugieren que el Compuesto (1) tiene un excelente equilibrio entre los efectos terapéuticos y los efectos adversos en comparación con los agentes terapéuticos convencionales para la enfermedad inflamatoria intestinal, y es útil como un agente terapéutico para la colitis ulcerosa.

[Tabla 2]

Cambios en la longitud del intestino grueso y el peso corporal en animales con el modelo de EII inducida por DSS		
	Cambio en la longitud del intestino grueso (Razón con respecto al grupo sin tratamiento, %)	Tasa de cambio de peso corporal (% , media $\pm$ ET)
Sin tratamiento	100	$3,7 \pm 1,5$
Control	73,4	$-1,7 \pm 1,8$
Compuesto (1) 100 mg/kg/día	88,6	$0,4 \pm 1,2$
Prednisolona 5 mg/kg/día	93,2	$-3,9 \pm 1,0$
5-ASA 100 mg/kg/día	80,3	$-5,0 \pm 0,3$
* Un grupo que mostró una mejora significativa en la longitud del intestino grueso en comparación con el grupo control (P < 0,05, prueba t de Student).		

#### Ejemplo 4 (Prueba de toxicidad oral de una única dosis)

20 Se suspendieron 2000 mg/kg de Compuesto (1) en una solución de HPMC al 0,5%, y se administró por vía oral a una dosis única de 10 mL/kg a cinco ratas macho y cinco ratas hembra SD (6 semanas de edad). Como resultado, no se observó ningún caso de muerte, ni se observó ningún cambio de peso corporal.



**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un agente terapéutico para su uso en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal que comprende 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.
2. El agente terapéutico para su uso en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, de acuerdo con la reivindicación 1, donde la enfermedad inflamatoria intestinal es la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.
- 10 3. El agente terapéutico para su uso en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal, de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el ingrediente activo es hidrocloruro de 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H, 3H)-pirimidinodiona.
- 15 4. El uso de la 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un agente terapéutico para la enfermedad inflamatoria intestinal.
5. El uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la enfermedad inflamatoria intestinal es la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.
- 20 6. El uso de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, donde la 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona o una de sus sales farmacéuticamente aceptables es el hidrocloruro de 5-cloro-6-(2-iminopirrolidin-1-il)metil-2,4(1H, 3H)-pirimidinodiona.

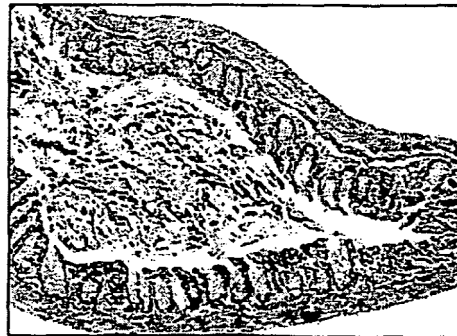
Fig. 1



**Control**



**TNBS**



**T N B S + Compuesto (1)**

Fig. 2

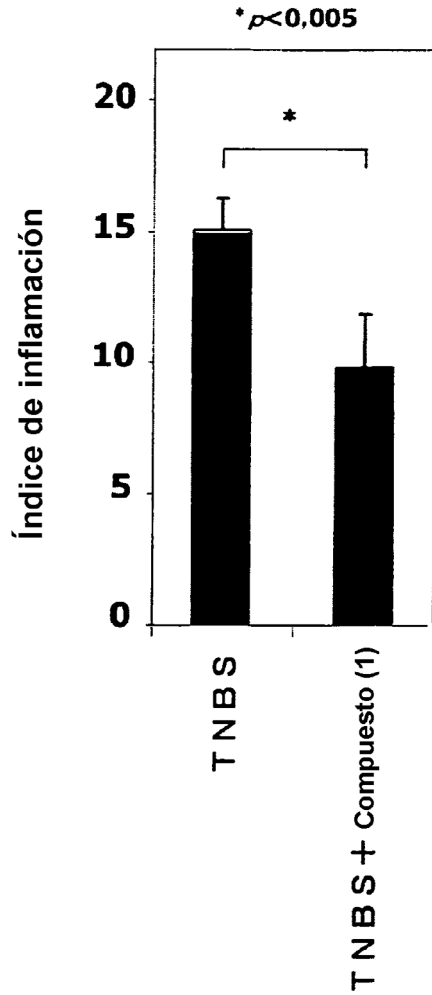


Fig. 3

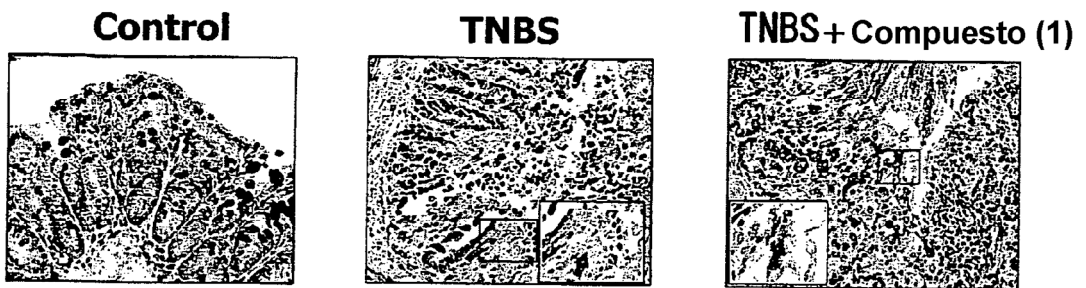


Fig. 4

