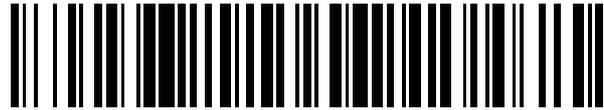


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 458 493**

51 Int. Cl.:

A61K 31/5575 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.08.1994 E 04077870 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.02.2014 EP 1514548**

54 Título: **Composición oftálmica tópica de fluprostenol para el tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular**

30 Prioridad:

03.08.1993 US 101598

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.05.2014

73 Titular/es:

**ALCON LABORATORIES, INC. (100.0%)
6201 SOUTH FREEWAY
FORT WORTH, TX 76134-2099, US**

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 458 493 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).

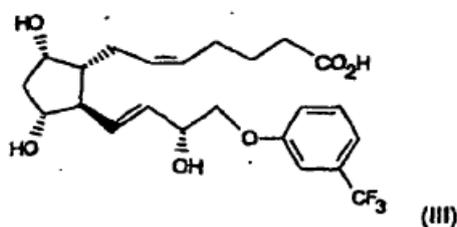
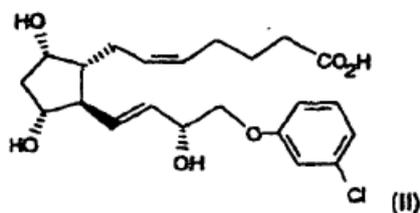
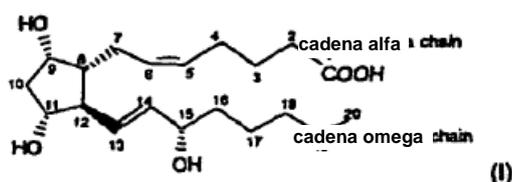
DESCRIPCIÓN

Composición oftálmica tópica de fluprostenol para el tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere al tratamiento del glaucoma y de la hipertensión ocular. En particular, la presente invención se refiere a una composición oftálmica tópica tal como se define en la reivindicación 1.

El cloprostenol y el fluprostenol, dos compuestos conocidos, son análogos sintéticos de la $\text{PGF}_{2\alpha}$, una prostaglandina (PG) natural de la serie F. A continuación se muestran las estructuras de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (I), el cloprostenol (II) y el fluprostenol (III):



10 El nombre químico del cloprostenol es 16-(3-clorofenoxi)-17,18,19,20-tetranor- $\text{PGF}_{2\alpha}$. La monografía nº 2397 (página 375) del Merck Index, 11 Edición (1989) se incorpora aquí por referencia en la medida en que describe la preparación y los perfiles farmacológicos conocidos del cloprostenol. El fluprostenol tiene el nombre químico 16-(3-trifluorometilfenoxi)-17,18,19,20-tetranor- $\text{PGF}_{2\alpha}$. La monografía nº 4121 (páginas 656-657) del Merck Index, 11 Edición (1989) se incorpora aquí por referencia en la medida en que describe la preparación y los perfiles farmacológicos conocidos del fluprostenol.

15 El cloprostenol y el fluprostenol son 16-ariloxi-PG y, además del anillo aromático sustituido, se diferencian del producto natural, $\text{PGF}_{2\alpha}$, en que un átomo de oxígeno está embebido en la cadena inferior (omega). Esta interrupción de oxígeno forma una funcionalidad éter.

Es sabido que ciertas prostaglandinas naturales reducen la presión intraocular (*intraocular pressure* - IOP) después de instilación ocular tópica, pero generalmente provocan inflamación y también una irritación superficial caracterizada por hiperemia y edema conjuntival. Se ha observado que muchas prostaglandinas sintéticas reducen la presión intraocular, pero estos compuestos también producen los efectos secundarios mencionados. Ya se han utilizado diversos métodos para intentar eliminar los efectos secundarios oculares asociados a las prostaglandinas. Stjemschantz y col. (EP 364 417 A1) sintetizaron derivados o análogos de prostaglandinas naturales con el fin de eliminar selectivamente los efectos secundarios no deseados, manteniendo al mismo tiempo el efector reductor de la IOP. Otros, incluyendo Ueno y col. (EP 330 511 A2) y Wheeler (EP 435 682 A2) han intentado formar complejos de prostaglandinas con diversas ciclodextrinas.

20

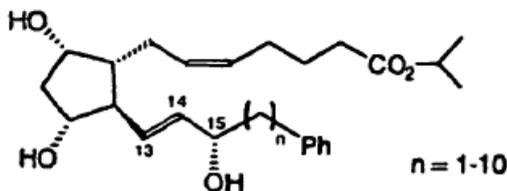
25

La publicación de Stjemschantz y col. es particularmente interesante, ya que demuestra que determinados análogos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ modificados sintéticamente mantienen el potente efecto reductor de la IOP del precursor (isopropil éster de $\text{PGF}_{2\alpha}$) y al mismo tiempo reducen el grado de hiperemia conjuntival. En esta publicación, la única modificación de la estructura de la PG se lleva a cabo en la cadena omega: la longitud de la cadena es de 4-13 átomos de carbono "opcionalmente interrumpida por preferiblemente no más de dos heteroátomos (O, S o N)" e incluye un anillo fenilo

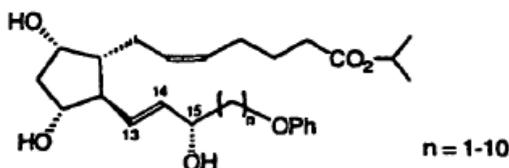
30

(sustituido o no sustituido) en el extremo (véase desde la página 3, línea 44, hasta la página 4, línea 7). Stjemschantz y col. ilustran dos subclases dentro de esta definición:

(1) cadenas omega solo carbono, es decir,



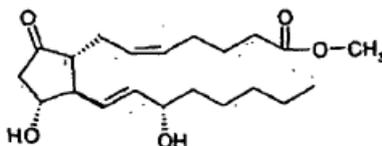
5 y (2) cadenas omega interrumpidas por heteroátomos, es decir,



10 En particular, el análogo 17-fenil-18,19,20-trinor de PGF_{2α} isopropil éster (fórmula 1, n = 2) demostró una separación superior de actividades favorables y adversas. Además, el análogo 13,14-dihidro de isopropil éster de 17-fenil-18,19,20-trinor PGF_{2α} demostró una separación de actividades todavía más favorable. Tanto el 17-fenil-PGF_{2α} como su congénere 13,14-dihidro entran dentro de la primera subclase (fórmula 1, cadena omega solo carbono). Con otros análogos sintéticos donde se empleó el sustituyente fenilo en el extremo de la cadena omega se exploraron los efectos de prolongación de cadena, contracción de cadena y sustitución del anillo fenilo. Sin embargo, estos análogos no demostraron ninguna mejora terapéutica evidente con respecto a la formulación preferente, isopropil éster de 13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF_{2α}.

15 Debido a que incluyen una interrupción de la cadena omega con heteroátomos (O), tanto el cloprostenol como el fluprostenol están incluidos genéricamente en la subclase definida en la fórmula 2 por Stjemschantz y col. Sin embargo, Stjemschantz y col. no mencionan ninguno de los dos compuestos y la divulgación se refiere principalmente a cadenas omega solo carbono. El único ejemplo de cadena omega interrumpida por heteroátomos dado a conocer por Stjemschantz y col. es isopropil éster de 16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor-PGF_{2α} (véase la fórmula 2, n = 1). Los datos de la IOP revelados por Stjemschantz y col. para el isopropil éster de 16-fenoxi-17-18,19,20-tetranor-PGF_{2α} (véase Stjemschantz y col., página 17, Tabla V) indican un aumento inicial de la IOP (1-2 horas después de la administración) seguido de una disminución. Sin embargo, este compuesto muestra una hiperemia inaceptable (véase Stjemschantz y col., Tabla IV, línea 40). En pocas palabras, los datos de Stjemschantz y col. demuestran que la clase subgenérica de compuestos de cadena omega interrumpida por oxígeno (véase la fórmula 2) presenta un perfil terapéutico inaceptable.

25 El documento EP 0 603 800 pertenece a la técnica anterior conforme al Artículo 54(3) del EPC. Este documento describe una composición oftálmica tópica para el tratamiento del glaucoma y la hipertensión ocular, comprendiendo la composición una combinación de prostaglandinas particulares de las series F y E. El Ejemplo E del documento EP 0 603 800 (objeto de renuncia en las reivindicaciones) da a conocer el compuesto (F) 0,0001% en peso, isopropil éster de fluprostenol 0,001% en peso, cloruro de benzalconio 0,01% en peso, dextrano 70 0,1% en peso, edetato disodio 0,05% en peso, cloruro de potasio 0,12% en peso, cloruro de sodio 0,77% en peso, hidroxipropilmetilcelulosa 0,3% en peso, HCl y/o NaOH para ajustar el pH, y agua depurada q.s. hasta el 100%, teniendo el compuesto (F) la siguiente fórmula:



SUMARIO DE LA INVENCION

35 Ahora se ha descubierto sorprendentemente que el isopropil éster de fluprostenol demuestra una reducción de la IOP considerablemente mayor que la de los compuestos de Stjemschantz y col. y al mismo tiempo tiene un perfil de efectos secundarios similar o inferior. En particular, parece que la adición de un grupo trifluorometilo en la posición *meta* del

anillo fenoxi al final de la cadena omega proporciona un compuesto que permite una excelente reducción de la IOP sin los significativos efectos secundarios que se producen con otros compuestos estrechamente relacionados.

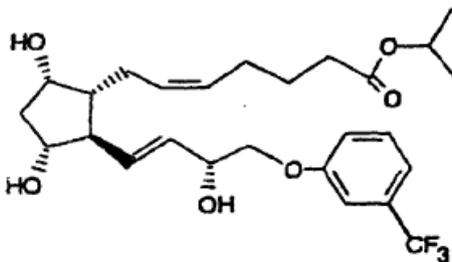
Además, también se ha descubierto sorprendentemente que el isopropil éster de fluprostenol es útil para tratar el glaucoma y la hipertensión ocular. En particular, la aplicación tópica de composiciones oftálmicas que comprenden isopropil éster de fluprostenol conduce a una reducción significativa de la IOP.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- Figura 1: gráfico que muestra los resultados de hiperemia relativa (acumulativos) de cinco compuestos analizados (véase más abajo la Tabla 2), siendo uno de ellos un compuesto de la presente invención.
- Figura 2: gráfico que muestra los efectos reductores de la IOP relativa de cinco compuestos analizados (véase más abajo la Tabla 2), siendo uno de ellos un compuesto de la presente invención. La dosis de cada uno de los compuestos analizados era de 0,3 µg.
- Figura 3: gráfico similar al de la Figura 2 que muestra los efectos reductores de la IOP relativa de diferentes concentraciones de A (cloprostenol, isopropil éster) y E (13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF_{2α}, isopropil éster).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

El compuesto útil en la presente invención tiene la siguiente fórmula:



El ácido se puede convertir en el éster mediante condensación convencional con un alcohol (por ejemplo un alcohol C₃) o mediante reacción con un alquil electrófilo (por ejemplo yoduro de alquilo C₃) en presencia de una base, de acuerdo con procedimientos conocidos. Dado que estas reacciones de esterificación son bien conocidas, no se describen adicionalmente aquí.

Los compuestos a que se hace referencia aquí incluyen isopropil éster de cloprostenol (Tabla II, compuesto A), isopropil éster de fluprostenol (compuesto a), la forma 3-oxa de isopropil éster de doprostenol (Tabla 1, compuesto 5), isopropil éster de 13,14-dihidrofluprostanol (compuesto 6), cloprostenol-1-ol (compuesto 7) y pivaloato de 13,14-dihidrodoprostenol-1-ol (compuesto 8), de los cuales únicamente el isopropil éster de fluprostenol (compuesto B) corresponde a la presente invención.

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

Para formar composiciones para la administración tópica, el compuesto de la presente invención se formula generalmente en forma de una solución al entre aproximadamente el 0,00003 y aproximadamente el 3 por ciento en peso (% en peso) en agua a un pH entre 4,5 y 8,0. Preferentemente, el compuesto se formula en forma de una solución al entre aproximadamente el 0,0003 y aproximadamente el 0,3% en peso y de forma especialmente preferente entre aproximadamente el 0,003 y aproximadamente el 0,03% en peso. Aunque el régimen en sí se deja a discreción del médico, se recomienda administrar la solución resultante vía tópica disponiendo una gota en cada ojo una o dos veces al día.

Otros ingredientes que pueden ser convenientes para su uso en las preparaciones oftálmicas de la presente invención incluyen conservantes, codisolventes y agentes de aumento de viscosidad.

Conservantes antimicrobianos:

Normalmente, los productos oftálmicos están envasados en forma multidosis, lo que generalmente requiere la adición de conservantes para evitar una contaminación microbiana durante su uso. Los conservantes adecuados incluyen: cloruro de benzalconio; timerosal, clorobutanol, metilparabeno, propilparabeno, alcohol feniletílico, edetato disodio, ácido ascórbico, Onamer M®, u otros agentes conocidos por los especialistas en la técnica. Estos conservantes se emplean normalmente a una concentración de entre aproximadamente el 0,001% y aproximadamente el 1,0% en peso.

Codisolventes:

Las prostaglandinas, y en particular los derivados éster, normalmente tienen una solubilidad limitada en agua y, por ello, se puede requerir un agente tensioactivo u otro codisolvente apropiado en la composición. Estos codisolventes incluyen: polisorbato 20, 60 y 80; Pluronic® F-68, F-84 y P-103; Tyloxapol®; Cremophor® EL, dodecilsulfato de sodio; glicerol; PEG 400; propilenglicol; cidodextrinas; u otros agentes conocidos por los especialistas en la técnica. Estos codisolventes se emplean normalmente a una concentración de entre aproximadamente el 0,01% y aproximadamente el 2% en peso.

Agentes de viscosidad:

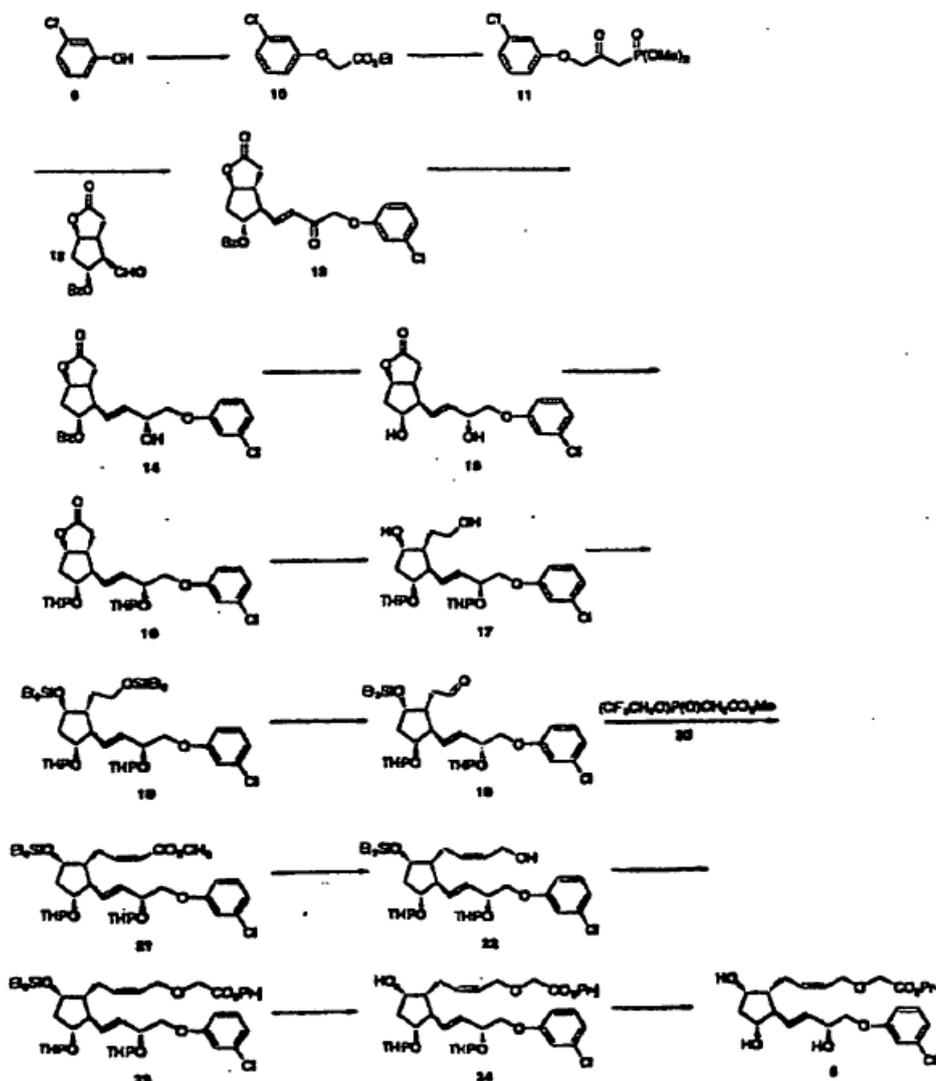
Puede resultar conveniente una viscosidad mayor que la de soluciones acuosas simples para aumentar la absorción ocular del compuesto activo, reducir la variabilidad en la administración de las formulaciones, reducir la separación física de los componentes de una suspensión o emulsión de formulación y/o mejorar de otro modo la formulación oftálmica. Los agentes de aumento de viscosidad incluyen, por ejemplo, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropil-celulosa u otros agentes conocidos por los especialistas en la técnica. Estos agentes se emplean normalmente en una concentración entre aproximadamente el 0,01% y aproximadamente el 2% en peso.

Tabla 1

	Nombre del compuesto	Estructura del compuesto
5	isopropil éster de 3-oxacloprostenol	
6	isopropil éster de 13,14-dihidrofluprostenol	
7	cloprostenol-1-ol	
8	pivaloato de 13,14-dihidrocloprostenol-1-ol	

En los siguientes ejemplos se utilizan las siguientes abreviaturas estándar: g = gramos (mg = miligramos); mol = moles (mmol = milimoles); mol% = por ciento en moles; ml = mililitros; mm Hg = milímetros de mercurio; p.f. = punto de fusión; p.e. = punto de ebullición; h = horas; y min = minutos. Además, "RMN" se refiere a la espectroscopia por resonancia magnética nuclear y "EM IQ" se refiere a espectrometría de masas por ionización química.

Ejemplo 1 (referencia): Síntesis de 3-oxacloprosteno (5)



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

5 Primero se mezclaron entre sí acetona (320 ml), 75 g (450 mmol) de bromoacetato de etilo y 40,0 g (310 mmol) de 3-clorofenol, y después se añadieron 69,8 g (505 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla se agitó mecánicamente y se calentó a reflujo durante 4 horas y, después de enfriar a temperatura ambiente, se vertió en 350 ml de acetato de etilo. Luego se añadieron con precaución 400 ml de HCl 1M, teniendo cuidado para evitar una formación excesiva de espuma. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con porciones de acetato de etilo (3 X 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante $MgSO_4$ y se filtraron y concentraron, y el sólido resultante se recristalizó a partir de hexano para obtener 58 g (87%) de **10** en forma de un sólido blanco, p.f. = 39-40°C. 1H -RMN δ 7,20-7,08 (m, 1 H), 6,95-6,82 (m, 2 H), 6,75-6,70 (m, 1 H), 4,53 (s, 2 H), 4,21 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,23 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

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

15 A 20,6 g (166 mmol, 238 mol%) de metilfosfonato de dimetilo en 110 ml de THF a -78°C se añadió gota a gota 65 ml (162 mmol, 232 mol%) de una solución 2,5M de *n*-BuLi en hexanos. Una vez completa la adición, la mezcla se agitó durante 1 hora más, tras lo cual se añadió gota a gota 15,0 g (69,9 mmol) del ariloéster **10** en 40 ml de THF. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y después se extinguió por adición de 100 ml de NH_4Cl saturado. La mezcla se vertió en 200 ml de una mezcla 1/1 de NaCl saturado/acetato de etilo, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante $MgSO_4$ y se filtraron y concentraron para obtener 20,5 g (100%) de **11** en forma de un aceite viscoso. 1H -RMN δ 7,22 (t, J = 8,1 Hz, 1 H), 7,05-6,90 (m, 2 H), 6,85-6,78 (m, 1 H), 4,72 (s, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 3,78 (s, 3 H), 3,27 (d, J = 22,8 Hz, 2 H).

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

5 El fosfonato **11** (20,5 g, 70,0 mmol), 2,6 g (62 mmol) de LiCl y 200 ml de THF se mezclaron entre sí a 0°C y se añadieron 6,10 g (60,4 mmol) de NEt₃. Después se añadió gota a gota el aldehído **12** (14,0 g, 51,1 mmol) disuelto en 50 ml de CH₂Cl₂. Una hora después, la mezcla de reacción se vertió en 200 ml de una mezcla 1/1 de NH₄Cl/acetato de etilo, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron, y el residuo se cromatografió en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/hexanos, 3/2, para obtener 16,2 g (72%) de **13** en forma de un sólido cristalino blanco, p.f. = 101,0 - 102,0°C. ¹H-RMN δ 8,0-7,9 (m, 2 H), 7,62-7,52 (m, 1 H), 7,50-7,38 (m, 2 H), 7,18 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,0-6,82 (m, 3 H), 6,75-6,70 (m, 1 H), 6,54 (d, J = 15,1 Hz, 1 H), 5,32 (q, J = 6,2 Hz, 1 H), 5,12-5,05 (m, 1 H), 4,66 (s, 2 H), 3,0-2,8 (m, 3 H), 2,7-2,2 (m, 3 H).

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

15 A una solución de 9,70 g (22,0 mmol) de enona **13** en 60 ml de THF a -23°C se añadió gota a gota una solución de 11,1 g (34,6 mmol) de (-)-B-clordiisopino-camfeilborano en 30 ml de THF. Cuatro horas después, la reacción se extinguió por adición gota a gota de 5 ml de metanol y después se calentó a temperatura ambiente. Después de verterla en 200 ml de una mezcla 2/1 de acetato de etilo/NH₄Cl saturado, las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron, y el residuo se cromatografió en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/hexanos, 3/2, para obtener 4,7 g (48%) de **14** en forma de un sólido blanco, p.f. 101,0-102,5°C, ¹H-RMN δ 8,05-7,95 (m, 2 H), 7,62-7,40 (m, 3 H), 7,18 (t, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,0-6,92 (m, 1 H), 6,85 (t, J = 2,1 Hz, 1 H), 6,77-6,70 (m, 1 H), 5,85 (d de d, J = 6,2, 15,5 Hz, 1 H), 5,72 (d de d, J = 4,5, 15,5 Hz, 1 H), 5,30 (q, J = 5,8 Hz, 1 H), 5,12-5,04 (m, 1 H), 4,58-4,48 (m, 1 H), 3,92 (d de d, J = 3,5, 9,3 Hz, 1 H), 3,80 (d de d, J = 7,3, 9,4 Hz, 1 H), 2,9-2,2 (m, 8 H).

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

25 A una mezcla de 5,1 g (11,5 mmol) de **14** en 200 ml de metanol se añadieron 1,7 g (12 mmol) de K₂CO₃. Una hora después, la mezcla se vertió en 100 ml de HCl 0,5M y se extrajo con acetato de etilo (3 X 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con agua (2 x 100 ml) y NaCl saturado (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó mediante MgSO₄ y se filtró y concentró para obtener 4,85 g del diol crudo **15**, que se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

30 A una mezcla de 4,85 g de **15** crudo y 2,4 g (28 mmol) de 3,4-dihidro-2H-pirano en 75 ml de CH₂Cl₂ a 0°C se añadieron 370 mg (1,9 mmol) de monohidrato de ácido *p*-toluensulfónico. Después de 45 minutos de agitación, la mezcla de reacción se vertió en 40 ml de NaHCO₃ saturado, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron. El residuo se cromatografió en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 49% en hexanos para obtener 6,0 g (100%) de **16** en forma de un aceite. ¹H-RMN (COCl₂) δ (solo picos característicos) 7,25-7,14 (m, 1 H), 6,95-6,87 (m, 2 H), 6,83-6,72 (m, 1 H), 5,8-5,4 (m, 4 H), 5,1-4,8 (m, 2 H).

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

40 A una suspensión de 400 mg (10,5 mmol) de hidruro de litio-aluminio en 20 ml de THF a 0°C se añadió gota a gota una solución de 4,5 g (8,8 mmol) de la lactona **16** en 20 ml de THF. Después de 1 hora a 0°C, la mezcla se vertió cuidadosamente en 100 ml de una mezcla 1/1 de NH₄Cl saturado/acetato de etilo enfriada con hielo. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron para obtener 4,5 g (100%) del diol **17**, que se utilizaron en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

45 Se añadió cloruro de trietilsililo (3,0 g, 20 mmol) a una mezcla de 4,5 g (8,8 mmol) de **17** crudo, 40 ml de DMF, 1,85 g (27,0 mmol) de imidazol y 310 mg (2,5 mmol) de 4-(dimetilamino)piridina. Dos horas después, la reacción se vertió en 100 ml de una mezcla 1/1 de acetato de etilo/NH₄Cl saturado, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 25 ml), se secaron mediante MgSO₄ y se concentraron. El residuo se cromatografió en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 20% en hexano para obtener 5,2 g (80%) de **18**. ¹H-RMN (CDCl₃) δ (solo picos característicos) 7,22-7,12 (m, 1 H), 6,95-6,88 (m, 2 H), 6,83-6,71 (m, 1 H), 5,8-5,4 (m, 4 H), 5,1-4,8 (m, 2 H), 1,0-0,85 (m, 18 H), 0,7-0,5 (m, 12 H).

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

5 A una mezcla de 1,6 g (12,6 mmol) de cloruro de oxalilo y 15 ml de CH₂Cl₂ a -78°C se añadió gota a gota una solución de 1,54 g (19,7 mmol) de DMSO en 2 ml de CH₂Cl₂. Diez minutos después se añadieron gota a gota 4,6 g (6,2 mmol) del bis-silano **18** en 8 ml de CH₂Cl₂. Después de 95 minutos se añadieron 3,0 g (30 mmol) de NEt₃. La mezcla se calentó luego a temperatura ambiente y se vertió en 70 ml de NH₄Cl saturado. La solución se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 70 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron. El residuo se cromatografió en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 20% en hexano para obtener 2,06 g (53%) de **19**, así como 1,5 g (26%) de **18** recuperado. ¹H-RMN (CDCl₃) δ (solo picos característicos) 9,78 (t, J = 1,4 Hz, 1 H), 7,22-7,12 (m, 1 H), 6,95-6,88 (m, 2 H), 6,83-6,71 (m, 1 H), 5,8-5,4 (m, 4 H) 5,1-4,8 (m, 2 H), 1,0-0,85 (m, 18 H), 0,7-0,5 (m, 12 H).

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

15 A una solución de 1,35 g (4,24 mmol) del fosfonato **20** y 2,60 g (9,84 mmol) de 18-corona-6 en 20 ml de THF a -78°C se añadió gota a gota 6,9 ml (3,45 mmol) de una solución de hezametilidisilazano de potasio 0,5M en tolueno. Después de 15 minutos de agitación se añadió gota a gota una solución de 1,65 g (2,64 mmol) del aldehído **19** en 20 ml de THF. Una hora después, la mezcla se vertió en 100 ml de NH₄Cl saturado/acetato de etilo, 1/1, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y se concentraron, y el residuo se cromatografió en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 20% en hexano para obtener 1,135 g (63%) de **21**. ¹H-RMN (CDCl₃) δ (solo picos característicos) 7,22-7,11 (m, 1 H), 6,97-6,86 (m, 2 H), 6,85-6,75 (m, 1 H), 6,4-6,2 (m, 1 H), 5,8-5,32 (m, 3 H), 3,66 (s, 3 H).

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

25 A una solución de 850 mg (1,25 mmol) del éster **21** en 10 ml de THF a 0°C se añadieron 2,4 ml (3,6 mmol) de una solución de hidruro de diisobutilaluminio 1,5M en tolueno. Una hora después, la mezcla se vertió en 20 ml de NH₄Cl saturado y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar 800 mg (98%) de **22** en forma de un aceite. ¹H-RMN (CDCl₃) δ (solo picos característicos) 7,25-7,15 (m, 1 H), 6,97-6,90 (m, 2 H), 6,86-6,75 (m, 1 H), 5,81-5,41 (m, 4 H).

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

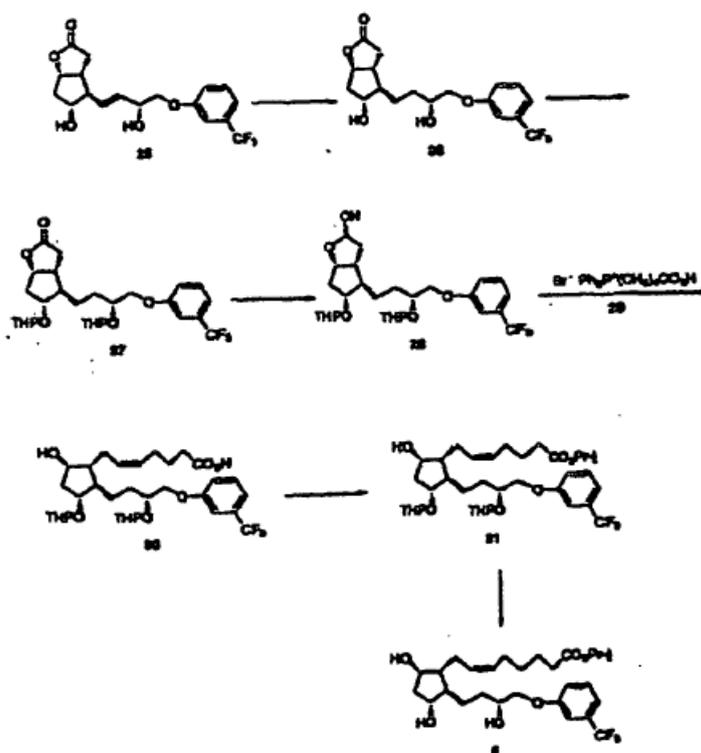
30 A una solución de 415 mg (6,37 mmol) del alcohol **22** en 4 ml de THF a -78°C se añadieron gota a gota 0,35 ml (0,87 mol) de una solución de n-BuLi 2,5M en hexano. Quince minutos después, esta solución se transfirió con una jeringa a una solución a -78°C de 195 mg (1,08 mmol) de bromoacetato de isopropilo en 2 ml de THF. La mezcla se mantuvo a -78°C durante 40 min, se calentó a temperatura ambiente durante una noche y después se vertió en 20 ml de una mezcla 1/1 de NH₄Cl saturado/acetato de etilo. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 10 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron, y el residuo se cromatografió en gel de sílice (20% acetato de etilo en hexano) para obtener 242 mg (53%) de **23** en forma de un aceite. ¹H-RMN (CDCl₃) δ (solo picos característicos) 7,24-7,15 (m, 1 H), 6,97-6,90 (m, 2 H), 6,86-6,75 (m, 1 H), 5,81-5,41 (m, 4 H), 1,57 (d, J = 5,7 Hz, 6 H).

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

45 A una solución de 230 mg (0,32 mmol) del silano **23** en 5 ml de THF a temperatura ambiente se añadieron 0,33 ml (0,33 mmol) de una solución 1M de Bu₄NF en THF. Después de 20 minutos, la reacción se vertió en 4 ml de NH₄Cl saturado y se extrajo con acetato de etilo (4 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron, y el residuo se cromatografió en gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 1/1) para obtener 126 mg (65%) del compuesto destilado **24**.

50 A 120 mg de **24** en 5 ml de metanol se añadieron 0,45 ml de HCl 2M. Una hora después, la mezcla se añadió a 3 ml de NaHCO₃ saturado y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 8 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se cromatografió en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo para obtener 54 mg (56%) de **5**. ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 169,92 (C), 159,26 (C), 135,13 (CH), 134,95 (CH), 134,81 (C), 124,93 (CH), 121,22 (CH), 115,06 (CH), 113,08 (CH), 77,75 (CH), 72,02 (CH), 71,94 (CH₂), 70,76 (CH₂), 68,77 (CH), 67,78 (CH₂), 66,50 (CH₂), 55,46 (CH), 49,93 (CH), 42,47 (CH₂), 25,85 (CH₂), 21,75 (CH₃), EM IQ, m/z calculado para C₂₄H₃₄O₇Cl₁ (MH⁺), 469,1993, hallado 469,1993.

Ejemplo 2 (referencia): Síntesis de isopropil éster de 13,14-dihidrofluprostenol



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

5 Una mezcla de 1,2 g (3,2 mmol) del diol **25** (para la síntesis del diol **25**, véase la Patente US 4.321.275) y 0,05 g de 10% (p/p) Pd/C en 20 ml de metanol se hidrogenó a 30 psi durante 1,5 horas. Después de filtración a través de una almohadilla de Celite, su concentración dio como resultado 1,2 g de **26** en forma de un aceite incoloro. ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7,44 (m, 2 H), 7,12 (m, 2 H), 4,95 (dt, 1 H), 4,15-3,80 (m, 4 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 6 H).

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

15 Una mezcla de 1,2 g (3,2 mmol) del diol **26** y 0,05 g de monohidrato de ácido p-toluensulfónico en 100 ml de CH₂Cl₂ a 0°C se trató con dihidropirano (1,1 ml, 12 mmol) y la solución se agitó durante 2 horas a 0°C. Después de verter la solución en NaHCO₃, las fases se separaron y la capa orgánica se secó mediante MgSO₄ y se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía en gel de sílice (1/1, hexanos/ EtOAc) para obtener 1,1 g de **27** en forma de un aceite claro incoloro. ¹H-RMN (COCl₂) δ 8,04 (dd, J = 7,0, 1,8, 1 H), 7,44 (m, 2 H), 7,12 (m, 1 H), 4,95 (dt, 1 H), 4,8 (m, 1 H), 4,7 (m, 2 H), 4,15-3,80 (m, 4 H), 3,5 (m, 2 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 6 H).

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

20 A una solución de 2,1 g (3,9 mmol) de **27** en 100 ml de THF a -78°C se añadieron 3,9 ml (5,8 mmol) de una solución 1,5M de hidruro de diisobutialuminio en tolueno. La solución se agitó durante 2 horas y después se extinguió por adición secuencial de 0,4 ml de isopropanol a -78°C seguido por 0,4 ml de agua a 23°C. Los volátiles se retiraron bajo presión reducida y la solución acuosa se extrajo con Et₂/EtOAc (1/1). Los extractos orgánicos se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron para obtener 1,9 g del lactol **28**.

25 En un matraz de 3 bocas y fondo redondo de 250 ml equipado con agitador mecánico y termómetro se introdujeron DMSO anhidro (100 ml) y NaH (dispersión al 80% en aceite mineral; 0,48 g, 16 mmol). La mezcla se calentó a 75°C (temperatura interna) durante 30 minutos, tras lo cual se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego se añadió bromuro de fosfonio **29** (3,5 g, 8 mmol). Después de agitar la mezcla durante 30 minutos, se añadieron 1,9 g (3,5 mmol) del lactol **28** en 50 ml de DMSO y la solución resultante se calentó a 50°C durante 2 horas y después se llevó a temperatura ambiente durante 16 horas. La solución se vertió luego en 100 ml de agua y aproximadamente 2 ml de NaOH al 50%. La fase acuosa se extrajo con éter (3 x 100 ml) y después se acidificó (pH = 5,5) mediante la adición de

30

una disolución de ácido cítrico al 10% y se extrajo con Et₂O:hexanos 2:1 (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron para obtener 1,9 g de **30** en forma de un aceite incoloro.

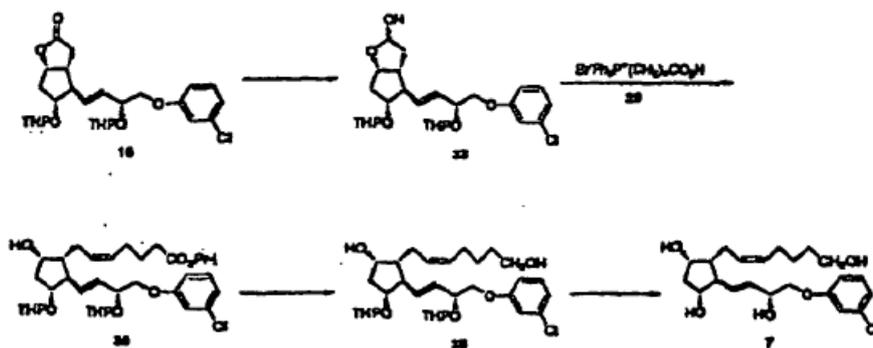
5 A 1,9 g del ácido carboxílico **30** disuelto en 10 ml de acetona se añadieron 0,95 g (6,0 mmol) de DBU y 1,0 g (6,1 mmol) de yoduro de isopropilo 23°C. Dieciséis horas después, la solución se vertió en 100 ml de agua y se extrajo con 100 ml de EtOAc. El extracto orgánico se secó mediante MgSO₄ y se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía en gel de sílice (3/2, hexanos/EtOAc) para obtener 1,9 g del isopropil éster **31** en forma de un aceite incoloro. ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7,44 (t, 1 H), 7,12 (d, 1 H), 7,12 (dd, 2 H), 5,5-5,3 (m, 2 H), 4,99 (hepteto, 1 H), 4,15-3,80 (m, 4 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 24 H), 1,23 (s, 3 H), 1,20 (s, 3 H).

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

El éster **31** (1,9 g, 2,8 mmol) se disolvió en 14 ml de una mezcla AcOH/THF/H₂O (4/2/1) y la solución se calentó a 50°C durante 1 hora, se vertió en una disolución saturada de NaHCO₃ y se extrajo con Et₂O (2 x 100 ml) y EtOAc (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron, concentraron y purificaron mediante cromatografía en gel de sílice (1/1, hexanos/EtOAc) para obtener 0,5 g del triol **6** en forma de un aceite claro incoloro. ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7,44 (t, J = 7,8, 1 H), 7,12 (dd, J = 7,8, 2,0, 1 H), 7,12 (ddd, J = 15,6, 7,2, 2,0, 2 H), 5,5-5,3 (m, 2 H), 4,99 (hepteto, J = 6,3, 1 H), 4,16-3,80 (m, 4 H), 3,2 (d, 1 H); 2,95 (s, 1 H), 2,82 (dd, J = 10,8, 1 H), 2,75 (d, J = 5,9, 1 H), 2,55 (m, 2 H), 2,3 (m, 1 H), 2,1-1,3 (m, 24 H), 1,23 (s, 3 H), 1,20 (s, 3 H), CMR (CDCl₃) δ 173,5, 158,7, 132,1, 131,5, 130,0, 129,5, 129,2, 123,3, 120,8, 117,7, 117,6, 111,4, 111,4, 78,6, 74,4, 72,4, 69,9, 67,6, 52,6, 51,7, 42,5, 34,0, 31,5, 29,4, 26,8, 26,6, 24,9, 21,7.

20

Ejemplo 3 (referencia): Síntesis de cloprosteno-1-ol (7)



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

25 Una solución 1,5M de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (10 ml, 15 mmol) se añadió gota a gota a una solución de 5,8 g (11,4 mmol) de la lactona **16** en 55 ml de THF a -78°C. Una hora después se añadieron gota a gota 10 ml de metanol, y la mezcla se agitó durante 10 minutos a -78°C antes de calentarla a temperatura ambiente. Después, la mezcla se vertió en 100 ml de una solución 1/1 de tartrato de sodio-potasio acuoso saturado/acetato de etilo y se agitó. Después de separar las capas, la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron, concentraron y purificaron mediante cromatografía en gel de sílice (3/2, acetato de etilo/hexano), para obtener 4,4 g (76%) del lactol **33**, que se utilizó inmediatamente en el siguiente paso.

30

Una solución 1M de t-butoxido de potasio en THF (50,0 ml) se añadió gota a gota a 12,1 g (27,3 mmol) de la sal de fosfonio **29** en 100 ml de THF a 0°C. Treinta minutos después se añadió gota a gota una solución de 4,4 g (8,6 mmol) del lactol **33** en 20 ml de THF, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente una noche. La solución se vertió después en 150 ml de una mezcla 1/1 de acetato de etilo/NH₄Cl saturado. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron, y el residuo se redisolvió en 80 ml de acetona. A esta solución se añadieron 6,5 g (45 mmol) de DBU seguidos de 7,3 g (43 mmol) de yoduro de isopropilo. Después de agitar durante una noche, la mezcla de reacción se vertió en 100 ml de una mezcla 1/1 de acetato de etilo/NH₄Cl saturado. A continuación se separaron las capas y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron, concentraron y purificaron mediante cromatografía en gel de sílice (40% acetato de etilo en hexano) para obtener 2,92 g (53% de la lactona **16**) del éster **34**.

35

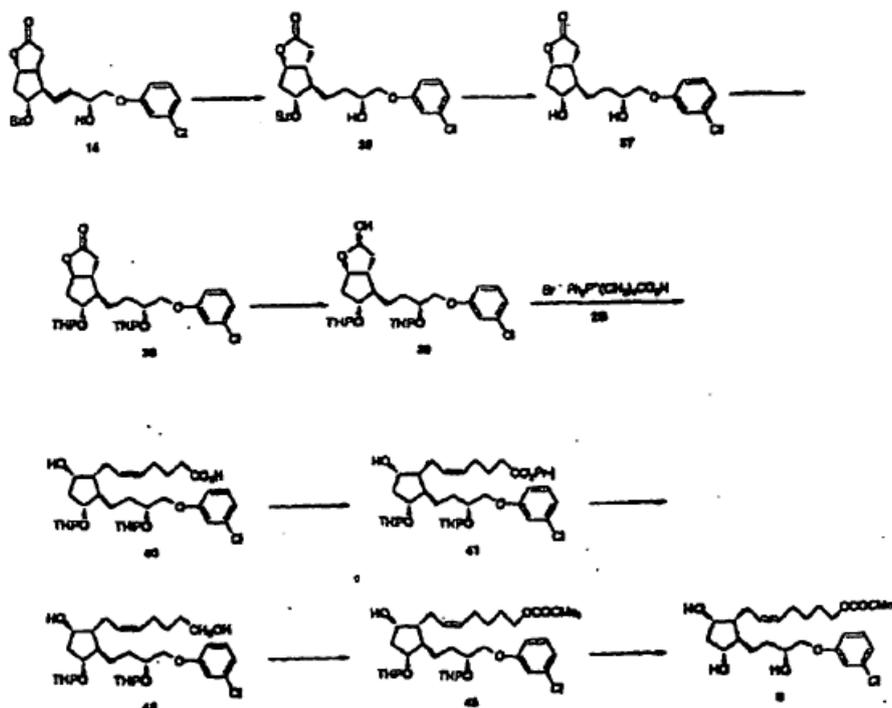
40

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

Una solución de 500 mg (0,79 mmol) de **34** en 10 ml de THF se añadió gota a gota a 61 mg (1,60 mmol) de hidruro de litio-aluminio en 20 ml de THF a 0°C. Cuarenta minutos después, la reacción se vertió en 15 ml de NH₄Cl saturado y la mezcla se extrajo después con acetato de etilo (3 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron para obtener 500 mg de **35** crudo.

A una solución de 500 mg de **35** en 20 ml de metanol se añadieron 0,5 ml de HCl 2M. Una hora después, la reacción se extinguió con 20 ml de NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (4 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron. La cromatografía en gel de sílice (EtOAc) proporciona 101 mg (31% de **34**) de **7**. ¹³C-RMN (CDCl₃ δ 159,27 (C), 135,44 (CH), 134,82 (C), 130,64 (CH), 130,26 (CH), 128,23 (CH), 121,25 (CH), 115,07 (CH), 113,08 (CH), 77,35 (CH), 72,35 (CH), 71,90 (CH₂), 70,89 (CH), 62,22 (CH₂), 55,40 (CH), 49,87 (CH), 42,79 (CH₂), 31,83 (CH₂), 26,77 (CH₂), 25,60 (CH₂), 25,33 (CH₂), EM IQ m/z calculado para C₂₂H₂₂O₅Cl, (MH⁺) 411,1938, hallado 411,1938.

Ejemplo 4 (referencia): Síntesis de pivaloato de 13,14-dihidroclorostenol-1-ol (6)



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

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

20 El benzoato crudo **36** se disolvió en 25 ml de metanol y se añadieron 610 mg (4,4 mmol) de K₂CO₃. Tres horas y media después, la mezcla se vertió en 100 ml de agua/acetato de etilo (1/1). Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO₄ y se filtraron y concentraron. La cromatografía en gel de sílice (EtOAc) proporcionó 1,50 g (82%) de **37** en forma de un sólido blanco, p.f. = 102,0-103,5°C. ¹H-RMN δ 7,22 (t, J = 8,2, Hz, 1 H), 7,0-6,94 (m, 1 H), 6,91-6,88 (t, J = 2,1 Hz, 1 H), 6,83-6,77 (m, 1 H), 4,97 (dt, J = 3,0, 8,3 Hz, 1 H), 4,12-3,91 (m, 3 H), 3,82 (dd, J = 7,4, 9,0 Hz, 1 H), 2,85 (dd, J = 8,0, 16,5 Hz, 1 H), 2,6-1,4 (m, 11 H).

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

30 El diol **37** (3,4 g, 10 mmol) y 2,2 g (26 mmol) de 3,4-dihidro-2H-pirano se disolvieron en 80 ml de CH₂Cl₂ y se añadieron 240 mg (1,3 mmol) de monohidrato de ácido p-toluensulfónico a 0°C. Una hora después, la mezcla de reacción se vertió en 50 ml de NaHCO₃ saturado y la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se

secaron mediante MgSO_4 y se filtraron y concentraron, y el residuo se cromatografió en gel de sílice (hexano/acetato de etilo, 1/1) para obtener 4,5 g (87%) del bis-THP éter **38**.

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

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

- 15 Una solución 1,5M de t-butoxido de potasio en THF (8,6 ml, 8,6 mmol) se añadió gota a gota a una mezcla de 15 ml de THF y 1,92 g (4,33 mmol) de la sal de fosfonio **29** a 0°C . Después de 1 h de agitación, se añadió gota a gota una solución de 740 mg (1,45 mmol) del lactol **39** en 5 ml de THF, y la reacción se dejó calentar a 25°C durante una noche. Después, la mezcla se vertió en 100 ml de acetato de etilo/ NH_4Cl saturado (1/1). Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 70 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO_4 y se filtró y concentró para obtener 1,6 g del ácido crudo **40**.

- 20 El ácido crudo **40** (1,6 g) se disolvió en 11 ml de acetona y se enfrió a 0°C , y después se añadieron gota a gota a la solución 850 mg (5,6 mmol) de DBU. La mezcla resultante se agitó durante 15 minutos a 0°C y 30 minutos a 25°C , tras lo cual se añadieron 850 mg (5,0 mmol) de yoduro de isopropilo. La mezcla de reacción se agitó una noche y se vertió en 100 ml de acetato de etilo/ NH_4Cl saturado (1/1). Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO_4 y se filtraron y concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo/hexanos, 3/2) para obtener 560 mg (61% de lactol **39**) del isopropil éster **41**.

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

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

- 35 Se añadió cloruro de pivaloilo (90 mg, 0,75 mmol) a una mezcla de 350 mg (0,60 mmol) de **42**, 60 mg (0,76 mmol) de piridina, 22 mg (0,18 mmol) de 4-(dimetilamino)piridina y 7 ml de CH_2Cl_2 . Una hora y media después, la mezcla se vertió en 30 ml de NH_4Cl saturado/acetato de etilo (1/1). Las capas se separaron después y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO_4 y se filtraron, concentraron y purificaron mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 3/2) para obtener 370 mg (93%) del pivaloato **43**.

- 40 A una solución de 370 mg (0,56 mmol) de **43** en 5 ml de metanol se añadió agua (10 gotas) y HCl concentrado (3 gotas). Después de agitar la mezcla durante una noche, la reacción se extinguió por adición de 20 ml de NaHCO_3 saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron mediante MgSO_4 y se filtraron y concentraron. El residuo se cromatografió en gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 3/2) para obtener 165 mg (59%) del triol **8**. ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 178,77 (C), 159,27 (C), 134,80 (C), 130,20 (CH), 128,62 (CH), 121,19 (CH), 114,97 (CH), 112,97 (CH), 78,50 (CH), 74,46 (CH), 72,31 (CH_2), 69,86 (CH), 64,16 (CH_2), 52,53 (CH), 51,67 (CH), 42,50 (CH_2), 31,51 (CH_2), 29,40 (CH_2), 28,10 (CH_2), 27,12 (CH_3), 26,77 (CH_2), 26,65 (CH_2), 25,77 (CH_2), EM IQ, m/z calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_6\text{Cl}_1$ (MH^+), 497,2670, hallado 497,2658.

- 45 Los estudios detallados en los siguientes Ejemplos 5-9 acompañan la actividad de reducción de la IOP y los efectos secundarios de cinco compuestos: A) cloprostenoil, isopropil éster; B) fluprostenol, isopropil éster; C) 16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor-PGF $_{2\alpha}$, isopropil éster; D) 17-fenil-18,19,20-trinor-PGF $_{2\alpha}$, isopropil éster; y E) 13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF $_{2\alpha}$, isopropil éster (latanoprost). La siguiente Tabla 2 muestra las estructuras de estos compuestos.

Tabla 2

	Nombre del compuesto	Estructura del compuesto
A	Cloprostenol, isopropil éster	
B	Fluprostenol, isopropil éster	
C	16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor-PGF _{2α} , isopropil éster	
D	17-fenil-18,19,20-trinor-PGF _{2α} , isopropil éster	
E	13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF _{2α} , isopropil éster	

5 Tal como muestra claramente la Tabla 2, los cinco compuestos sólo se diferencian ligeramente en la estructura; sin embargo, como mostrarán los Ejemplos 5 y 6, estas diferencias estructurales aparentemente pequeñas producen efectos de reducción de la IOP y niveles de hiperemia muy diferentes.

Ejemplo 5

Los compuestos A-E (Tabla 2, arriba) se analizaron en relación con la hiperemia en cobayas. El objetivo del modelo de hiperemia conjuntival consiste en proporcionar una indicación de exploración primaria del potencial de una prostaglandina para inducir hiperemia conjuntival en humanos.

10 Los cobayas se mantuvieron en sus jaulas durante el estudio y sólo se sacaron de ellas para la puntuación y dosificación. Los ojos se evaluaron utilizando una lente de aumento con iluminación fluorescente y se registraron las puntuaciones de la hiperemia conjuntival para la conjuntiva bulbar superior de acuerdo con los siguientes criterios:

- 15
- 0 = Aspecto normal de los vasos en el limbo y en el músculo recto superior
 - +1 = Aumento de los vasos normalmente visibles en el limbo y en el músculo recto superior
 - +2 = Ramificación de vasos en el limbo, nuevos vasos visibles
 - +3 = Nuevos vasos visibles en áreas conjuntivales bulbares abiertas
 - +4 = Rojez difusa en áreas conjuntivales bulbares abiertas

Las puntuaciones 0 o 1 indicaban ausencia de hiperemia y las puntuaciones 2-4 indicaban hiperemia (indicando una puntuación 4 la hiperemia más marcada). Sólo se admitieron puntuaciones con números enteros para reducir al mínimo la subjetividad.

- 5 Se realizaron observaciones de línea base antes de la dosificación unilateral de una parte alícuota de 10 μ l de la formulación de ensayo de prostaglandina o de la formulación de control, seguida de observaciones 1, 2, 3 y 4 horas después de la dosificación. Los grupos incluían normalmente cuatro animales, pero la cantidad oscilaba hasta ocho animales por grupo. Los resultados del estudio se presentan en la Tabla 3, mostrada más abajo, en forma de frecuencia porcentual de cada puntuación, y en la Figura 1 como incidencia porcentual de hiperemia, definida como el porcentaje de las puntuaciones +2 o +3 con respecto a la cantidad total de observaciones por cada dosis.

Tabla 3: Hiperemia conjuntival en cobayas**

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

* Número de animales analizados

** Los números indican la incidencia porcentual de la puntuación correspondiente.

Discusión:

El compuesto **C** (16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor-PGF_{2α}, isopropil éster) produce una hiperemia considerable a dosis bajas y a dosis de 0,3 y 1,0 µg todos los ojos recibieron una o más puntuaciones +3. El compuesto **D** (17-fenil-18,19,20-trinor-PGF_{2α}, isopropil éster) produce menos hiperemia que el compuesto C, pero considerablemente más que el compuesto **E** (13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF_{2α}, isopropil éster), que sólo produce una hiperemia suave. La hiperemia producida por el compuesto **A** (cloprosteno, isopropil éster) y el compuesto **B** (fluprostenol, isopropil éster) parece estar entre la del compuesto **D** y el compuesto **E**, pero este grado de hiperemia es también leve y no se puede distinguir de la producida por el compuesto **E**.

Ejemplo 6

En el estudio presentado más abajo, los compuestos **A-E** (Tabla 2, arriba) se analizaron en cuanto al efecto reductor de la IOP en ojos de mono cynomolgus.

El ojo derecho de los monos cynomolgus utilizados en este estudio se sometió previamente a trabeculoplastia con láser para inducir una hipertensión ocular en el ojo sometido al láser. Los animales habían sido entrenados para estar sentados en sillas de restricción y acondicionados para aceptar procedimientos experimentales sin restricción química. La IOP se determinó con un neumatómetro después de una ligera anestesia corneal con proparacaína diluida. El protocolo de ensayo incluía un régimen de tratamiento de cinco dosis debido a la típica respuesta demorada a las prostaglandinas. Las formulaciones de ensayo designadas se administraron en el ojo derecho sometido a láser, permaneciendo el ojo izquierdo normal sin tratamiento, aunque se tomaron mediciones de la IOP. Antes del tratamiento con la formulación de ensayo, se determinaron los valores de la IOP de la línea base y luego se determinó la IOP de 1 a 7 horas después de la primera dosis, 16 horas después de la cuarta dosis y de 1 a 4 horas después de la quinta dosis. Los resultados se presentan en las Tablas 4 y 5, mostradas más abajo, y en las Figuras 2 y 3, como el porcentaje de reducción medio de la IOP con respecto a la línea base ± SEM. Las dosis de prostaglandina son los microgramos de compuesto contenido en cada tratamiento con 10 µl de la formulación de ensayo. En la Tabla 4, se comparó la misma cantidad (0,3 µg) de cada uno de los compuestos **A-E** en relación con la reducción de la IOP. En la Tabla 5 se compararon diversas cantidades del compuesto **A** (0,3 y 1,0 µg) con diversas cantidades del compuesto **E** (0,3, 1,0 y 3,0 µg) con el fin de determinar las respuestas a las dosis de los dos compuestos diferentes.

Tabla 4: Porcentaje de reducción de IOP en monos cynomolgus tratados con láser

Compuesto (isopropil éster)	IOP línea base (mm Hg)	Porcentaje de reducción de IOP (horas tras última dosis/dosis n°)			
		16/4	2/5	4/5	6/5
A (Cloprostano)	36,9	23,6±3,3	30,2±4,5	31,2±6,8	24,4±6,9
B (Fluprostenol)	41,6	18,4±5,9	31,2±3,7	30,3±3,8	26,6±3,6
C (16-fenoxi-17,18,19,20-tetranor-PGF _{2α})	38,2	30,2±4,4	25,3±4,5	23,6±3,8	28,9±3,0
D (17-fenil-18,19,20-trinor-PGF _{2α})	40,8	25,6±2,6	36,0±2,4	39,8±3,1	30,3±2,8
E (13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF _{2α})	39,7	7,6±2,9	3,6±2,7	7,5±2,7	8,0±3,4

Tabla 5: comparación del porcentaje de reducción de IOP

Comp.	Dosis (µg)	IOP línea base (mm Hg)	Porcentaje de reducción de IOP (horas tras última dosis/dosis n°)			
			16/4	2/5	4/5	6/5
A*	0,3	36,9	23,6±3,3	30,2±4,5	31,2±6,8	24,4±6,9
A	1	39,6	34,8±4,5	36,7±5,6	38,7±5,9	35,8±5,1
E	0,3	39,7	7,6±2,9	3,6±2,7	7,5±2,7	8,0±3,4
E**	1	38,9	23,2±3,6	22,0±4,0	18,8±5,2	20,2±4,0
E	3	30,1	11,6±6,5	17,6±5,8	13,1±5,0	12,7±5,0

* Cloprosteno, isopropil éster
** 13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF_{2α}, isopropil éster

30

Discusión:

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

La Tabla 5 muestra claramente que la reducción de la IOP con 1 µg del compuesto **A** es mayor que la producida por 0,3 µg del compuesto **A** y que la respuesta a cualquiera de estas dos dosis del compuesto **A** es mayor que la reducción máxima producida por cualquiera de las dos dosis del compuesto **E**. Estas observaciones indican que el compuesto **A** (cloprostenol, isopropil éster) es más potente y produce una respuesta máxima mayor en relación con la reducción de la IOP que el compuesto **E** (13,14-dihidro-17-fenil-18,19,20-trinor-PGF_{2α}).

Ejemplo 7 (referencia)

Es sabido que ciertos análogos de PGF_{2α} contraen el esfínter del iris de gatos y este ensayo es una referencia generalmente aceptada de la actividad. Por esta razón, puede emplearse el diámetro de la pupila de gatos para definir la actividad de análogos de PGF_{2α} y, tal como han demostrado Stjemschantz y Resul (Drugs Future, 17:891-704 (1992)), para predecir la potencia de reducción de la IOP.

Así, los compuestos de la presente invención se ensayaron en cuanto a la constricción pupilar en gatos. La siguiente Tabla 6 presenta los datos correspondientes a los compuestos 6, 7 y 8. La respuesta se cuantifica como valores del Área₁₋₅ (área bajo la curva del diámetro pupilar frente al tiempo de 1-5 horas) y la dosis de respuesta equivalente (ED₅) se estima a partir de su relación de respuesta a la dosis.

15 **Tabla 6: Respuesta del diámetro pupilar en gatos**

Compuesto	ED ₅ (µg)
Isopropil éster de PGF _{2α}	0,02
Isopropil éster de cloprostenol	0,01
6	0,20
7	0,02
8	0,06

Discusión:

Los dos compuestos estándar, isopropil éster de PGF_{2α} e isopropil éster de cloprostenol, produjeron un cambio notable en el diámetro pupilar de los gatos, mostrando valores ED₅ de 0,02 y 0,01 µg, respectivamente. El compuesto 7 (cloprostenol-1-ol) y el compuesto 8 (pivaloato de 13,14-dihidrocloprostenol-1-ol) presentaban una potencia prácticamente equivalente. El isopropil éster de 13,14-dihidrofluprostenol (compuesto 6) era aproximadamente un orden de magnitud menos potente, con una ED₅ de 0,2 µg.

Ejemplo 8 (referencia)

En el estudio presentado más abajo, el compuesto 6 (Tabla 1, arriba) se analizó en cuanto al efecto de reducción de la IOP en ojos de monos cynomolgus.

El ojo derecho de los monos cynomolgus utilizados en este estudio se sometió previamente a trabeculoplastia con láser para inducir una hipertensión ocular en el ojo sometido al láser. Los animales habían sido entrenados para estar sentados en sillas de restricción y acondicionados para aceptar procedimientos experimentales sin restricción química. La IOP se determinó con un neumatómetro después de una ligera anestesia corneal con proparacaína diluida. El protocolo de ensayo incluía un régimen de tratamiento de cinco dosis debido a la típica respuesta demorada a las prostaglandinas. Las formulaciones de ensayo designadas se administraron en el ojo derecho sometido a láser, el ojo izquierdo normal permaneció sin tratamiento, aunque se tomaron mediciones de la IOP. Antes del tratamiento con la formulación de ensayo se determinaron los valores de la IOP de la línea base y luego se determinó la IOP de 1 a 7 horas después de la primera dosis, 16 horas después de la cuarta dosis, y de 1 a 4 horas después de la quinta dosis.

La dosis de respuesta equivalente (ED₂₀) se estima a partir de la relación de la respuesta a la dosis que produce una reducción máxima del 20% en la IOP.

Tabla 7: Respuesta de la IOP de mono

Compuesto	ED ₂₀ (µg)
Isopropil éster de PGF _{2α}	0,4
6	0,3

Discusión:

Como se puede ver en la anterior Tabla 7, el compuesto 6, el análogo 13,14-dihidro de fluprostenol, era bastante potente en el modelo de IOP de mono, produciendo una reducción del 20% a una dosis de 0,3 µg. Este compuesto era incluso más potente que el compuesto estándar, isopropil éster de PGF_{2α}.

Ejemplo 9

Las siguientes Formulaciones 1-8 son composiciones farmacéuticas representativas para uso tópico en la reducción de la presión intraocular. Cada una de las Formulaciones 1 a 8 puede ser formulada de acuerdo con procedimientos conocidos por los especialistas en la técnica.

5 FORMULACIÓN 1 (referencia)

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Isopropil éster de cloprostenol	0,002
Dextrano 70	0,1
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,3
Cloruro de sodio	0,77
Cloruro de potasio	0,12
EDTA disodio (edetato disodio)	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
HCl y/o NaOH	pH 7,2 - 7,5
Agua depurada	q.s. hasta 100%

FORMULACIÓN 2 (referencia)

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

FORMULACIÓN 3 (referencia)

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Cloprostenol, metil éster	0,001
Dextrano 70	0,1
Hidroxipropil metilcelulosa	0,5
Fosfato sódico monobásico	0,05
Fosfato sódico dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA disodio (edetato disodio)	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
NaOH y/o HCl	pH 7,3 - 7,4
Agua depurada	q.s. hasta 100%

10

FORMULACIÓN 4 (invención)

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Isopropil éster de fluprostenol (Tabla 2, Compuesto B)	0,003
Fosfato sódico monobásico	0,05
Fosfato sódico dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA disodio (edetato disodio)	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
HCl y/o NaOH	pH 7,3 - 7,4
Agua depurada	q.s. hasta 100%

FORMULACIÓN 5 (referencia)

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

FORMULACIÓN 6 (referencia)

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

5 FORMULACIÓN 7 (referencia)

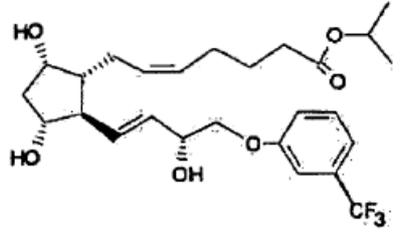
Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Compuesto 7 (Tabla 1)	0,001
Dextrano 70	0,1
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,5
Fosfato sódico monobásico	0,05
Fosfato sódico dibásico (anhidro)	0,15
Cloruro de sodio	0,75
EDTA disodio	0,05
Cloruro de benzalconio	0,01
NaOH y/o HCl	pH 7,3 - 7,4
Agua depurada	q.s. hasta 100%

FORMULACIÓN 8 (referencia)

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

REIVINDICACIONES

1. Composición oftálmica tópica para el tratamiento del glaucoma y la hipertensión ocular, que incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula



5 y un conservante antimicrobiano, siendo dicha composición oftálmica tópica diferente a una composición del Ejemplo E del documento EP0603800A1.

Figura 1
Hiperemia conjuntival en cobavas
Guinea Pig Conjunctival Hyperemia

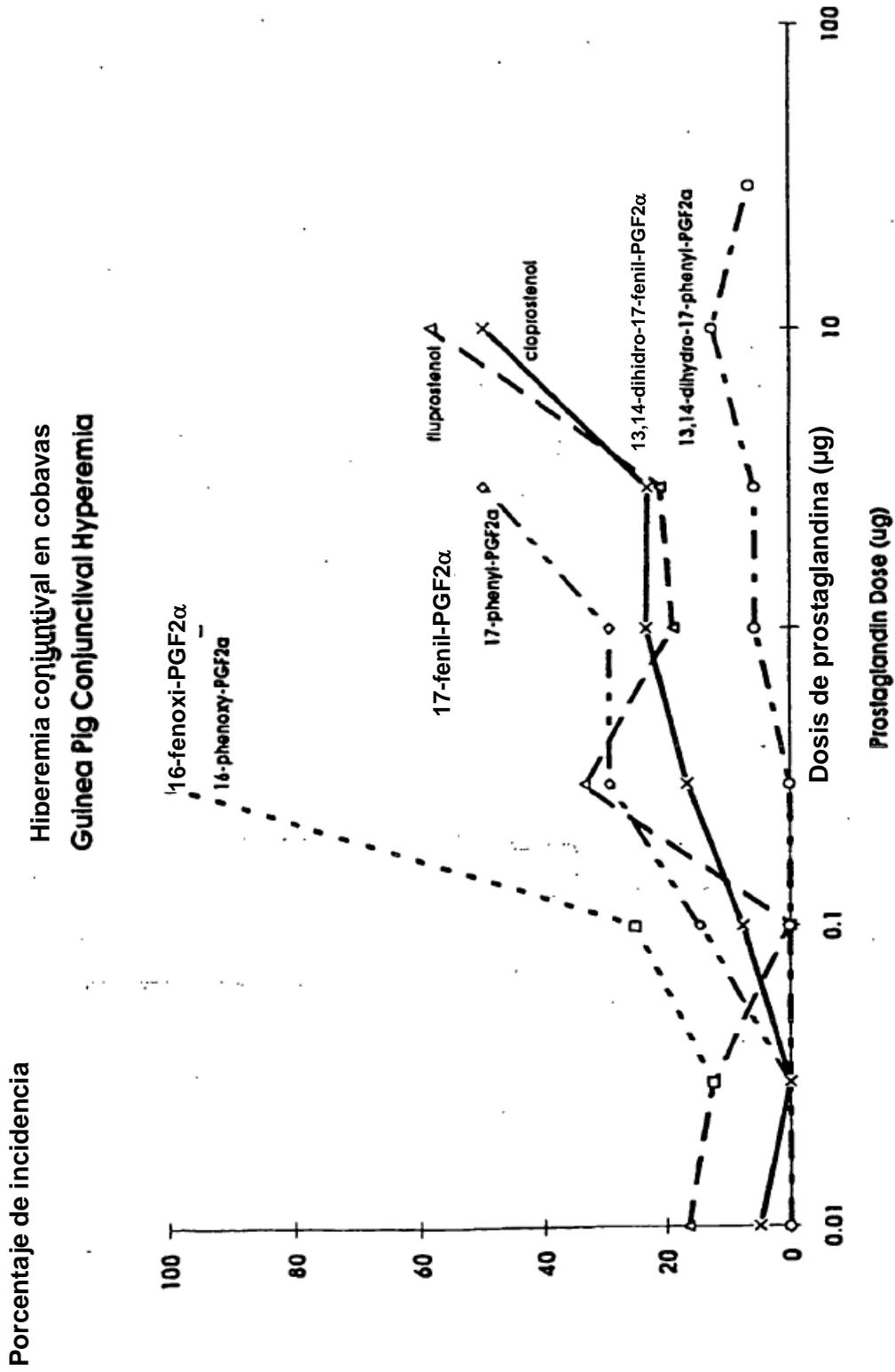


Figura 2
Presión intraocular en monos
Dosis de prostaglandina = 0,3 µg
% de cambio medio en IOP con respecto a la línea base

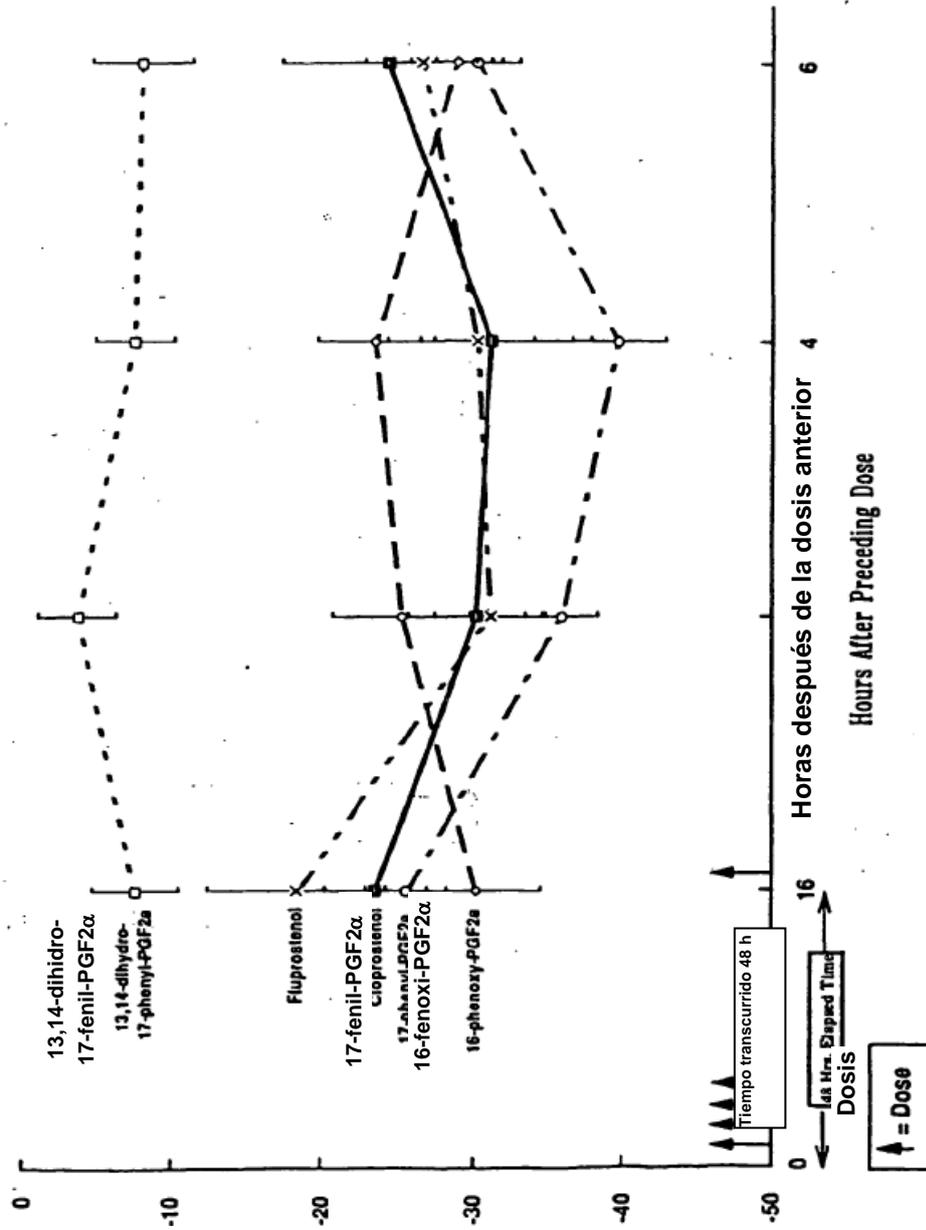


Figura 3
Presión intraocular en monos

