

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 471 145**

51 Int. Cl.:

C07J 71/00 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 27/14 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.03.2010 E 10750936 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.05.2014 EP 2407476**

54 Título: **Compuesto esteroide**

30 Prioridad:

09.03.2009 JP 2009055172

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

25.06.2014

73 Titular/es:

**MIKASA SEIYAKU CO., LTD. (100.0%)
3-1, Toyotama-kita 2-chome Nerima-ku
Tokyo 176-0012, JP**

72 Inventor/es:

ISHII, TAKAYUKI

74 Agente/Representante:

ESPIELL VOLART, Eduardo María

ES 2 471 145 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

Compuesto esteroide

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a compuestos esteroides. Más particularmente, la presente invención se refiere a nuevos compuestos esteroides que poseen un excelente efecto farmacológico, que se produce mediante la sustitución de la posición 21 de la diclesonida con un monosacárido acilado.

Antecedentes de la técnica

10 Se ha informado de profármacos de compuestos esteroides que por sí mismos no tienen actividades esteroideas pero que son convertidos en compuestos activos en el lugar de la inflamación (Bibliografía no Patente 1, Bibliografía Patente 1). Sin embargo, aunque los compuestos descritos en la Bibliografía no Patente 1 y en la Bibliografía Patente 1 tienen unos efectos secundarios reducidos de compuestos esteroides, la reducción de los efectos secundarios es insuficiente. En vista de esto, se sintetizó un compuesto en el que los grupos hidroxilo de un azúcar simple de un compuesto esteroideo azucarado son modificados con grupos protectores voluminosos, y se suprimió la liberación del esteroide en un sitio distinto al de la inflamación, intentando así reducir los efectos secundarios (Bibliografía Técnica 2). A continuación, se descubrieron compuestos cuyos efectos principales se separan mejor de los efectos secundarios usando como esteroide un esteroide metabolizable (Bibliografía Patente 3, Bibliografía Patente 4).

Bibliografía de la técnica anterior

Bibliografía Patente

20 Bibliografía Patente 1 GB 1015396
Bibliografía Patente 2 WO95/09177
Bibliografía Patente 3 WO99/47541
Bibliografía Patente 4 WO99/47542

Bibliografía no Patente

25 Bibliografía no Patente 1 J. Am. Chem. Soc. 1964, 86, 3903 - 4

Bibliografía no Patente 2 Biochemical Pharmacology, vol. 73, nº 10, 2007, páginas 1657 - 1664, desvela el uso de diclesonida como agente antiinflamatorio.

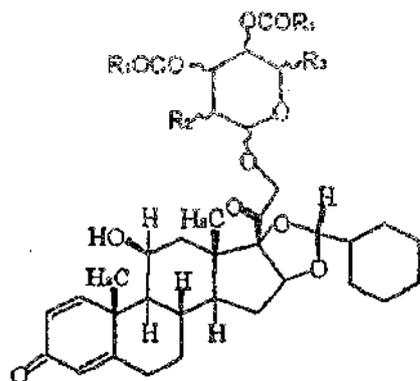
Resumen de la InvenciónObjeto de la Invención

30 Aunque las previamente descritas técnicas anteriores han descubierto compuestos cuyas acciones están separadas de los efectos secundarios, los efectos farmacológicos de los esteroides son menores que los de los fármacos esteroides conocidos. Los presentes inventores también evaluaron el efecto farmacológico de un compuesto preparado mediante la adición a la budesonida de un azúcar con una sustitución con un grupo funcional voluminoso, evaluación que se realizó mediante el uso de un modelo de dermatitis mediante administración externa, y se confirmó que el efecto farmacológico del compuesto es menor que el de un fármaco esteroide conocido (budesonida). En el ámbito de la medicina se demanda el desarrollo de un fármaco esteroide con una actividad más potente pero con menos efectos secundarios.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto esteroide con una actividad más potente pero con muchos menos efectos secundarios.

40 Resumen de la invención

El primer aspecto de la presente invención es un compuesto esteroide de la Fórmula (1).



(1)

[en la que R₁ representa un grupo seleccionado de entre el grupo que consiste en H, CH₃, C₂H₅, C₃H₇ y CH (CH₃)₂, R₂ representa un grupo seleccionado de entre NH₂, NHAc y OCOR₁, R₃ representa un grupo seleccionado de entre el grupo que consiste en CH₃, COOCH₃ y CH₂OCOR₁.]

5 El segundo aspecto de la presente invención es agentes antiinflamatorios que comprenden como ingrediente eficaz un compuesto esteroide de la Fórmula (1).

El tercer aspecto de la presente invención es un agente terapéutico para la dermatitis que comprende como ingrediente eficaz el compuesto de la Fórmula (1).

10 El cuarto aspecto de la presente invención es un agente terapéutico para el asma que comprende como ingrediente eficaz el compuesto de la Fórmula (1).

El quinto aspecto de la presente invención es un agente terapéutico para la rinitis que comprende como ingrediente eficaz el compuesto de la Fórmula (1).

El sexto aspecto de la presente invención es un agente terapéutico para la artritis que comprende como ingrediente eficaz el compuesto de la Fórmula (1).

15 El séptimo aspecto de la presente invención es un agente terapéutico para la colitis ulcerosa que comprende como ingrediente eficaz el compuesto de la Fórmula (1).

Efecto de la invención

20 Los compuestos esteroides de la presente invención tienen la característica ventajosa de que, mediante el uso de desciclesonida como esteroide, un compuesto preparado mediante la adición de un azúcar con una sustitución con un grupo funcional no voluminoso, tiene inesperadamente, tras su administración externa, un efecto antiinflamatorio mayor que el de los fármacos esteroides conocidos, presentando muchos menos efectos secundarios sistémicos. Además, los compuestos de la presente invención tienen las características ventajosas de que la actividad de la glucosidasa aumenta en la piel en el sitio de la inflamación; la cantidad de azúcar liberado aumenta en el sitio de la inflamación; y la cantidad de esteroide como compuesto activo principal aumenta; dado que en la piel normal la actividad de la glucosidasa es baja, la cantidad de producción del compuesto activo es pequeña; y por lo tanto es menos probable que se produzcan efectos secundarios. Esto es, los compuestos de la presente invención presentan la característica ventajosa de que no sólo se reducen los efectos secundarios sistémicos sino también los efectos secundarios locales.

30 En general, se aplica un ungüento sobre la piel inflamada, pero dado que la piel inflamada coexiste con la piel normal, el ungüento se aplica, como resultado, no sólo a la piel inflamada sino también a la piel normal. Por supuesto, los ungüentos esteroides conocidos poseen actividades esteroideas también en la piel normal, y este hecho puede dar lugar a unos efectos secundarios locales. Por otro lado, se cree que, dado que los compuestos de la presente invención muestran su efecto antiinflamatorio después de haber sido modificados hacia compuestos activos en la piel inflamada, y la cantidad de dicho cambio es pequeña en la piel normal, no se expresa una acción potente en la piel normal, lo que da como resultado una reducción de los efectos secundarios.

Breve descripción de los dibujos

40 la fig. 1 es un diagrama de flujo de la reacción de síntesis del compuesto de D-glucosa 1 (Ejemplo 1).

- la fig. 2 es un diagrama de flujo de la reacción de síntesis del compuesto 2 a partir del compuesto 1 (Ejemplo 2).
- la fig. 3 es un diagrama de flujo de la reacción de síntesis del compuesto 3 a partir de D-glucosa (Ejemplo 3).
- 5 la fig. 4 es un diagrama de flujo de la reacción de síntesis del compuesto 3 y del compuesto 4 a partir del compuesto 2 (Ejemplo 4 y Ejemplo 5).
- la fig. 5 es un diagrama de flujo que explica la síntesis del compuesto 5 y del compuesto 6 a partir del compuesto 2 (Ejemplo 6 y Ejemplo 7).
- 10 la fig. 6 es un diagrama de flujo que explica la síntesis del compuesto 7 y del compuesto 8 a partir del compuesto 2 (Ejemplo 8).
- la fig. 7 es un diagrama de flujo de la reacción de síntesis del compuesto 9 a partir de D-fucosa (Ejemplo 9).
- la fig. 8 es un diagrama de flujo de la reacción de síntesis del compuesto 10 a partir de L-fucosa (Ejemplo 10).
- 15 la fig. 9 es un diagrama de flujo de la reacción de síntesis del compuesto 11 y del compuesto 12 a partir de N-acetilglucosamina (Ejemplo 11).

Mejor modo de llevar a cabo la invención

En la presente memoria descriptiva, "desciclesonida" significa un metabolito activo de la ciclesonida (el compuesto C en la Fig. 1), el cual se usa como un antiasmático.

20 La presente invención tiene una estructura en la que hay un azúcar unido en la posición 21 de la desciclesonida, azúcar que posee un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector. Algunos ejemplos del azúcar que está unido en la posición 21 de la desciclesonida incluyen glucosa, galactosa, manosa, alosa, altrosa, gulosa, idosa, talosa, glucosamina, galactosamina, manosamina, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina y N-acetilmanosamina. Estos glucósidos puede ser o bien isómeros α o isómeros β .

25 El compuesto de la presente invención puede ser sintetizado fácilmente mediante el uso de un azúcar como se ha descrito anteriormente como material de partida, y algunos ejemplos típicos de su diagrama de flujo de reacción se muestran en las Figs. 1 a 9. Por ejemplo, los grupos hidroxilo del azúcar del material de partida están protegidos con un(os) grupo(s) toluílo y/o un(os) grupo(s) acetilo, y la posición anomérica es sustituida por un halógeno, seguido de la reacción del producto resultante con desciclesonida en presencia de un tamiz molecular y carbonato de plata, triflato de plata, perclorato de plata, o un ácido de Lewis tal como tetracloruro de estaño, para obtener un compuesto de la presente invención. En particular, en los casos en los que se emplee un grupo toluílo como grupo protector, puede evitarse la subproducción de un compuesto orto éster, y el compuesto de interés puede obtenerse eficientemente. Además, la desprotección del compuesto anterior puede llevarse a cabo fácilmente mediante una desprotección mediante el uso de MeONa / MeOH, una disolución acuosa de hidróxido de sodio o similares. El compuesto también puede obtenerse mediante la acilación del producto desprotegido.

30

35

En particular, es más preferido el empleo de las 5 etapas de las reacciones de la Fig. 1 hasta la reacción en la parte superior de la Fig. 4 a través de la reacción de la Fig. 2, en comparación con el empleo de las 3 etapas de la Fig. 3, en vista de los costes requeridos para la purificación y en vista del rendimiento.

40 Los productos farmacéuticos, especialmente los agentes antiinflamatorios que comprenden como componentes eficaces los compuestos de la presente invención, pueden usarse individualmente o en combinación para preparar varias formulaciones.

45 Para eccema, dermatitis (incluyendo queratodermia tiloidea palmar progresiva, melanosis facial femenina, liquen simple crónico, radiodermatitis y dermatitis solar), prurito cutáneo, prurigos (incluyendo liquen urticado, estrófulo y urticaria perstans), picaduras de insectos, psoriasis, pustulosis palmar y plantar, liquen plano, liquen nítido, pitiriasis roja pilosa, pitiriasis rosada de Gibert, grupo de eritema (incluyendo eritrodermia debida a linfoma maligno), lupus eritematoso discoide crónico, erupción / toxicodermia farmacológica, alopecia areata, quemaduras (incluyendo cicatrices y queloides), eritema pernio, dermatitis herpetiforme de Duhring (incluyendo penfigoide), hemorroides y similares, un compuesto de la presente invención puede usarse como un ungüento, una crema, una loción, una tela adhesiva, un aerosol, un ungüento sólido o similares para la piel o similares. Además, para enfermedades otolaringológicas tales como rinitis alérgica, otitis externa, otitis media y heridas quirúrgicas, incluyendo timpanoplastia / operación de

50

fenestración / operación radical del oído interno, puede usarse un compuesto de la presente invención como

un inhalante intranasal, unas gotas nasales, unas gotas óticas o similares. Además, para las enfermedades inflamatorias del ojo externo, tales como conjuntivitis, blefaritis y queratitis, puede usarse un compuesto de la presente invención como gotas oculares o como un ungüento ocular. Dado que es menos probable que los compuestos de la presente invención provoquen efectos secundarios sistémicos, la concentración de fármaco en la formulación puede aumentarse, y el fármaco puede usarse como una formulación a entre el 0,001 % y el 10,0 %, preferiblemente una formulación a entre el 0,01 % y el 1,0 %, especialmente una formulación a entre el 0,05 % y el 0,5 %. Además, el compuesto puede usarse como un inhalante en polvo o un inhalante en aerosol para la terapia de enfermedades respiratorias tales como asma bronquial y EPOC. Dado que es menos probable que los compuestos de la presente invención provoquen efectos secundarios sistémicos, la concentración de fármaco en la formulación puede aumentarse, y el fármaco puede usarse como una formulación que puede aplicarse en una cantidad de desde 1 µg hasta 1 mg, preferiblemente desde 50 µg hasta 500 µg, especialmente desde 75 µg hasta 300 µg en términos de la cantidad de pulverización o inhalación de una vez. Esta formulación puede usarse externamente, o bien como un agente terapéutico para la artritis que se va a administrar por vía intraarticular, o como un agente terapéutico para la colitis ulcerosa que se va a administrar por vía oral.

La presente invención se describirá ahora mediante los Ejemplos.

Ejemplo 1 (comparativo)

Síntesis del compuesto 1 (Figura 1)

Síntesis del compuesto A: se disolvieron 1,2 g de D-(+)-glucosa en 40 ml de cloroformo, y se añadieron a la misma 14,5 ml de cloruro de p-toluido y 8,9 ml de piridina a entre 0 y 5 °C. La mezcla obtenida se agitó durante 6 horas mientras se devolvía lentamente la temperatura hasta la temperatura ambiente. La disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo y la mezcla resultante se extrajo con cloroformo, seguido de un lavado de la capa orgánica con una disolución saturada de sulfato de cobre, una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera saturada. Después de secar el resultante sobre sulfato de magnesio anhidro, el disolvente se evaporó a presión reducida. Se sometió una alícuota, en una cantidad de 5,33 g del residuo obtenido, a una separación y a una purificación mediante cromatografía en columna en gel de sílice (tolueno:acetato de etilo = 50:1) para obtener 4,5 g del compuesto A en forma de un polvo de color blanco.

RMN-¹H (CDCl₃) δ: 2,309 (3H, s), 2,315 (3H, s), 2,362 (3H, s), 2,408 (3H, s), 2,474 (3H, s), 7,101 (2H, d, J = 8,06), 7,106 (2H, d, J = 8,06), 7,156 (2H, d, J = 8,06), 7,207 (2H, d, J = 8,06), 7,341 (2H, d, J = 8,06), 7,775 (2H, d, J = 8,06), 7,780 (2H, d, J = 8,06), 7,834 (2H, d, J = 8,06), 7,910 (2H, d, J = 8,06), 8,062 (2H, d, J = 8,06) PM = 770,831

Síntesis del compuesto B: se disolvieron 4,5 g del compuesto A en 20 ml de cloroformo, y al mismo se añadieron 8,8 ml de una disolución de bromuro de hidrógeno en ácido acético a entre 0 y 5 °C, seguido de una agitación de la mezcla durante una noche mientras se devolvía lentamente la temperatura hasta la temperatura ambiente. Después de eliminar el bromo sin reaccionar con gas argón, el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en cloroformo y la mezcla resultante se lavó con una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio. Después de secar el resultante sobre sulfato de magnesio anhidro, el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener 2,5 g (59,2 %) del compuesto B en forma de un polvo de color amarillo pálido.

RMN-¹H (CDCl₃) δ: 2,299 (3H, s), 2,357 (3H, s), 2,365 (3H, s), 2,414 (3H, s), 6,849 (1H, d, J₁ = J₂ = 4,03), 7,094 (2H, d, J = 8,06), 7,160 (2H, d, J = 8,06), 7,191 (2H, d, J = 8,06), 7,236 (2H, d, J = 8,06), 7,761 (2H, d, J = 8,06), 7,830 (2H, d, J = 8,06), 7,881 (2H, d, J = 8,06), 7,944 (2H, d, J = 8,06) PM = 715,593

Síntesis del compuesto C: se añadieron metanol (51,6 ml) y tetrahidrofurano (25,8 ml) a ciclesonida (3,00 g) para disolver la ciclesonida. Mientras se agitaba la mezcla, se añadieron 5,55 ml de NaOH 1 N. Después de continuar la agitación durante 30 minutos, se añadió amberlita 15 para neutralizar la mezcla. Después de eliminar la amberlita mediante filtración, la mezcla se concentró a presión reducida, seguido de una purificación mediante cromatografía en columna en gel de sílice para obtener el compuesto C (2,61 g, 100 %).

RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,92 (3H, s), 1,00 - 1,30 (8H, m), 1,45 (3H, s), 1,50 - 1,80 (10H, m), 2,02 - 2,21 (3H, m), 2,30 - 2,40 (1H, m), 2,52 - 2,62 (1H, m), 2,95 - 3,03 (1H, m), 4,20 - 4,30 (2H, m), 4,42 - 4,53 (2H, m), 4,88 (1H, d, J = 4,7 Hz), 6,04 (1H, s a), 6,25 - 6,31 (1H, m), 7,24 (1H, d, J = 10,1 Hz)

Síntesis del compuesto 1: se disolvieron el compuesto B (1,462 g) y el compuesto C (600 mg) en diclorometano anhidro (21 ml), y a los mismos se añadieron tamices moleculares de 4 Å (4,38 g). Después de agitar la mezcla en una atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 30 minutos, se añadió trifluorometansulfonato de plata (492 mg) en un baño de agua enfriada salada, y la mezcla resultante se agitó

durante 16 horas mientras se devolvía lentamente la temperatura hasta la temperatura ambiente, llevando así a cabo la reacción. Después de añadir una disolución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (30 ml) a la disolución de reacción y después de agitar, la mezcla obtenida se extrajo dos veces con cloroformo (20 ml). Después de lavar con salmuera saturada (20 ml), la capa de cloroformo se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a una separación y a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice (eluyendo secuencialmente con n-hexano-acetato de etilo = 3:1, 2:1, 1:1) para obtener 830 mg (58,9 %) del compuesto 1 en forma de un polvo de color blanco. Simultáneamente se recuperaron 249 mg (41,5 %) del compuesto B.

Rf = 0,28 (n-hexano-acetato de etilo = 2:1)

10 RMN-¹H (CDCl₃, 500 MHz) δ: 0,960 (3H, s, 18 - CH₃), 1,494 (3H, s, 19 - CH₃), 6,04 (1H, d, J = 2,0 Hz, H4), 6,31 (1H, dd, J = 2,0, 10,0 Hz, H2), 7,28 (1H, d, J = 10,0 Hz, H1), residuo de glucosa: 2,29, 2,35, 2,36, 2,41 (cada 3H, s, CH₃C₆H₅COO x 4), 4,00 (1H, ddd, J = 3,4, 4,1, 9,7 Hz, H5), 4,51 (1H, dd, J = 3,4, 12,0 Hz, H6a), 4,79 (1H, dd, J = 4,1, 12,0 Hz, H6b), 5,18 (1H, d, J = 7,9 Hz, H1), 5,49 (1H, t, 9,7 Hz, H2), 5,70 (1H, t, J = 9,7 Hz, H3), 5,87 (1H, t, 9,7 Hz, H4).

15 FAB-EM 1105 (M + H)⁺.

Ejemplo 2

Síntesis del compuesto 2 (Figura 2)

20 El compuesto 1 (887 mg) se disolvió en metanol anhidro (10 ml) y cloroformo anhidro (5 ml), y al mismo se añadió gota a gota metóxido de sodio al 28 % (1 ml) en una atmósfera de argón a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 1 hora adicional, llevando así a cabo la reacción. A esta disolución de reacción se añadió con agitación Dowex 50W (H⁺), que era una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida, para neutralizar la disolución de reacción. La mezcla se sometió a una filtración por succión. Después de lavar la disolución obtenida con metanol, el filtrado se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a una purificación mediante cromatografía en columna en gel de sílice (cloroformo:metanol = 10:1) para obtener 433 mg (85,3 %) del compuesto 2 en forma de un polvo de color blanco.

Rf = 0,36 (cloroformo:metanol = 5: 1)

30 RMN-¹H (CD₃OD) δ: 0,94 (3H, s), 0,96 - 1,32 (8H, m), 1,49 (3H, s), 1,50 - 1,80 (9H, m), 1,80 - 2,00 (2H, m), 2,07 - 2,30 (2H, m), 2,32 - 2,43 (1H, m), 2,57 - 2,72 (1H, m), 3,21 - 3,40 (4H, m), 3,62 - 3,71 (1H, m), 3,84 - 3,92 (1H, m), 4,32 (1H, d, J = 7,8 Hz), 4,36 (1H, d, J = 4,2 Hz), 4,54 (1H, d, J = 18,9 Hz), 4,76 (1H, d, J = 18,9 Hz), 4,84 (1H, d, J = 4,5 Hz), 6,01 (1H, br), 6,25 (1H, dd, J = 10,0 Hz), 7,45 (1H, d, J = 10,0 Hz) FAB - EM 633 (M + H)⁺

Ejemplo 3

Síntesis del compuesto 3 (Figura 3)

35 Síntesis del compuesto D: se agitaron D-(+)-glucosa (2,02 g), anhídrido acético (10 ml), bromuro de hidrógeno / ácido acético al 33% en peso (2 ml) durante una noche a temperatura ambiente en la oscuridad, y a la misma se añadieron bromuro de hidrógeno / ácido acético al 33% en peso (10 ml). Después de agitar la mezcla durante 7 horas, se añadió diclorometano (50 ml) a la disolución de reacción. La mezcla resultante se añadió a agua enfriada con hielo (50 ml) y se separó en una capa acuosa y diclorometano. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (50 ml x 2), seguido de la combinación de la capa de diclorometano. La disolución resultante se neutralizó con una disolución de hidrogenocarbonato de sodio, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró a presión reducida. Al residuo concentrado (4,74 g) se añadió diisopropil éter (6,5 g) y al mismo se añadió el compuesto D sintetizado por separado. Las masas solidificadas se trituraron y se filtraron, seguido de un lavado con diisopropil éter y un secado a presión reducida a temperatura ambiente, para obtener el compuesto D (3,83 g, 83,1 %).

Rf = 0,45 (hexano:acetato de etilo = 3:2)

45 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 2,04 (3H, s), 2,05 (3H, s), 2,098 (3H, s), 2,103 (3H, s), 4,09 - 4,17 (1H, m), 4,26 - 4,37 (2H, m), 4,84 (1H, dd, J = 4,2, 9,9 Hz), 5,10 - 5,21 (1H, m), 5,56 (1H, dd, J = 9,6, 9,6 Hz), 6,61 (1H, d, J = 4,2 Hz)

50 Síntesis del compuesto 3: en una atmósfera de argón se agitaron el compuesto B (1,50 g), trifluorometansulfonato de plata (0,908 g), tamices moleculares de 4 Å (3,60 g) y diclorometano (25 ml) a temperatura ambiente durante 3 horas en la oscuridad. La disolución de reacción se enfrió en agua enfriada con hielo, a la misma se añadió gota a gota la disolución del compuesto 1 (1,31 g) en diclorometano (15 ml)

aproximadamente a 5 °C. Después de agitar la mezcla resultante durante aproximadamente una hora, se retiró el baño de agua enfriada con hielo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La disolución de reacción se filtró, y a la misma se añadió una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (30 ml), seguido de una agitación vigorosa de la mezcla resultante durante 2,5 horas. La disolución se separó, la capa de diclorometano se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄, y la disolución resultante se concentró a presión reducida. El residuo concentrado (2,47 g) se sometió a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 1,37 g (53,7 %) del compuesto 3 en forma de un polvo de color blanco.

Rf = 0,11 (hexano:acetato de etilo = 3:2)

10 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,90 (3H, s), 0,95 - 1,30 (7H, m), 1,47 (3H, s), 1,48 - 1,83 (9H, m), 1,96 - 2,21 (4H, m), 2,02 (3H, s), 2,04 (3H, s), 2,10 (3H, s), 2,12 (3H, s), 2,29 - 2,39 (1H, m), 2,50 - 2,65 (1H, m), 2,78 (1H, br), 3,64 (1H, ddd, J = 9,9, 3,6, 3,6 Hz), 4,22 (1H, dd, J = 12,2, 3,6 Hz), 4,26 (1H, d, J = 4,8 Hz), 4,37 (1H, dd, J = 12,2, 3,6 Hz), 4,51 (1H, d, J = 18,9 Hz), 4,51 (1H, br), 4,59 (1H, d, J = 18,9 Hz), 4,84 (1H, d, J = 8,0 Hz), 4,87 (1H, d, J = 4,8 Hz), 5,02 (1H, dd, J = 9,3, 8,0 Hz), 5,11 (1H, dd, J = 9,3, 9,3 Hz), 5,24 (1H, dd, J = 9,3, 9,3 Hz), 6,03 (1H, a), 6,29 (1H, dd, J = 10,2, 2,0 Hz), 7,30 (1H, d, J = 10,2 Hz)

15

EM ESI (+) 823 (M + Na)⁺.

Ejemplo 4

Síntesis del compuesto 3 (Figura 4)

20 El compuesto 2 (0,100 g) se disolvió en piridina seca (10 ml), al mismo se añadió gota a gota ácido acético anhidro (1 ml) mientras se enfriaba en un baño de agua enfriada con hielo. Después de agitar a 5 °C durante 18 horas, se vertió metanol en la disolución de reacción, y después la mezcla se agitó durante 30 minutos. Después de concentrar la mezcla a presión reducida, el residuo concentrado se sometió a una purificación mediante cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 0,120 g (95 %) del compuesto 3 en forma de un polvo de color blanco.

25

Rf = 0,11 (hexano:acetato de etilo = 3:2)

Ejemplo 5

Síntesis del compuesto 4 (Figura 4)

30 El compuesto 2 (0,422 g) se disolvió en piridina seca (21 ml), al mismo se añadió gota a gota cloruro de propionilo (0,550 ml) mientras se enfriaba en un baño de agua enfriada con hielo. El baño de agua enfriada con hielo se retiró y después de agitar a temperatura ambiente durante 4 horas, la disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (60 g), la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La capa de acetato de etilo se lavó con agua, una disolución de sulfato de cobre, agua, una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera, y se secó sobre MgSO₄, seguido de una concentración de la mezcla a presión reducida. El residuo concentrado (0,556 g) se sometió a una purificación mediante cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 0,290 g (50,7 %) del compuesto 4 en forma de un polvo de color ligeramente amarillo.

35

Rf = 0,87 (cloroformo:metanol = 10:1)

40 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,90 (3E, s), 0,99 - 1,32 (20H, m), 1,47 (3H, s), 1,50 - 1,78 (8H, m), 1,95 - 2,22 (3H, m), 2,22 - 2,44 (9H, m), 2,52 - 2,62 (1H, m), 2,83 - 2,88 (1H, m), 3,58 - 3,65 (1H, m), 4,21 - 4,28 (3H, m), 4,36 (1H, dd, J1 = 12,1 Hz, J2 = 3,6 Hz), 4,47 - 4,63 (3H, m), 4,82 - 4,88 (2H, m), 5,04 (1H, dd, J1 = 9,5 Hz, J2 = 8,0 Hz), 5,13 (1H, dd, J1 = J2 = 9,8 Hz), 5,27 (1H, dd, J1 = J2 = 9,8 Hz), 6,03 (1H, bt), 6,29 (1H, dd, J1 = 10,1 Hz, J2 = 1,8 Hz), 7,30 (1H, d, J = 10,1 Hz)

40

EM ESI (+) 879 (M + Na)⁺.

Ejemplo 6

Síntesis del compuesto 5 (Figura 5)

45 El compuesto 2 (0,450 g) se disolvió en piridina seca (20 ml), al mismo se añadió gota a gota cloruro de n-butirilo (0,630 ml) mientras se enfriaba en un baño de agua enfriada con hielo. El baño de agua enfriada con hielo se retiró y después de agitar a temperatura ambiente durante 4 horas, la disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (60 g), la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La capa de acetato de etilo se lavó con agua, una disolución de sulfato de cobre, agua, una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera, y se secó sobre MgSO₄, seguido de una concentración del

50

disolvente a presión reducida. El residuo concentrado se sometió a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 0,320 g (49,3 %) del compuesto 5 en forma de un polvo de color blanco.

5 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,80 - 1,30 (23H, m), 1,47 (3H, s), 1,48 - 1,80 (16H, m), 1,94 - 2,18 (3H, m), 2,18 - 2,42 (9H, m), 2,52 - 2,62 (1H, m), 2,88 - 2,33 (1H, m), 3,55 - 3,65 (1H, m), 4,19 (1H, dd, J₁ = 12,1 Hz, J₂ = 3,4 Hz), 4,25 (1H, d, J = 4,5 Hz), 4,39 (1H, dd, J₁ = 12,1 Hz, J₂ = 3,5 Hz), 4,47 - 4,63 (3H, m), 4,82 - 4,88 (2H, m), 5,03 (1H, dd, J₁ = 9,8 Hz, J₂ = 8,0 Hz), 5,14 (1H, dd, J₁ = J₂ = 9,8 Hz), 5,27 (1H, dd, J₁ = J₂ = 9,5 Hz), 6,03 (1H, bt), 6,29 (1H, dd, J₁ = 10,1 Hz, J₂ = 1,8 Hz), 7,30 (1H, dd, J = 10,1 Hz)

EM ESI (+) 935 (M + Na)⁺.

10 Ejemplo 7

Síntesis del compuesto 6 (Figura 5)

15 El compuesto 2 (0,350 g) se disolvió en piridina seca (16 ml), al mismo se añadió gota a gota cloruro de isobutilo (0,500 ml) mientras se enfriaba en un baño de agua enfriada con hielo. El baño de agua enfriada con hielo se retiró y después de agitar a temperatura ambiente durante 4 horas, la disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (60 g), la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La capa de acetato de etilo se lavó con agua, una disolución de sulfato de cobre, agua, una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera, y se secó sobre MgSO₄, seguido de una concentración del disolvente a presión reducida. El residuo concentrado se sometió a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 0,420 g (83,2 %) del compuesto 6 en forma de un sólido de color blanco.

25 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,90 (3H, s), 1,00 - 1,27 (32H, m), 1,47 (3H, s), 1,49 - 1,82 (8H, m), 1,95 - 2,22 (3H, m), 2,31 - 2,37 (1H, m), 2,44 - 2,66 (5H, m), 2,92 - 2,95 (1H, m), 3,55 - 3,62 (1H, m), 4,17 (1H, dd, J₁ = 12,2 Hz, J₂ = 3,0 Hz), 4,25 (1H, d, J = 4,4 Hz), 4,40 (1H, dd, J₁ = 12,2 Hz, J₂ = 3,6 Hz), 4,45 - 4,62 (3H, m), 4,84 - 4,90 (2H, m), 5,03 (1H, dd, J₁ = 8,0 Hz, J₂ = 9,5 Hz), 5,12 (1H, dd, J₁ = J₂ = 9,7 Hz), 5,31 (1H, dd, J₁ = J₂ = 9,5 Hz), 6,03 (1H, s), 6,27 - 6,31 (1H, m), 7,30 (1H, d, J = 10,0 Hz)

EM ESI (+) 935 (M + Na)⁺.

Ejemplo 8

Síntesis del compuesto 7 (Figura 6)

30 El compuesto 2 (91 mg) se disolvió en piridina seca (4 ml), mientras se agitaba la mezcla se añadió al mismo gota a gota anhídrido de ácido acético ácido fórmico (0,65 ml) dividido en tres veces a entre 5 y 10 °C en un baño de agua. Después de agitar a la temperatura ambiente durante 20 horas, la disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (200 ml). Los sólidos de color blanco precipitados se filtraron con succión y después de lavar con agua, se disolvieron en cloroformo, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro. El cloroformo se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice (n-hexano-acetato de etilo = 1:1) y el compuesto en el cual los grupos hidroxilo de la glucosa están parcialmente sustituidos con grupos acetilo se eliminó mediante el uso de una columna ODS para realizar una HPLC preparativa (metanol:agua = 75:25) para obtener 48 mg (45 %) del compuesto 7 en forma de un polvo de color blanco

R_f = 0,66 (n-hexano:acetato de etilo = 1:1)

40 HPLC (columna ODS, metanol-agua = 77:33, 1 ml/min, UV 254 nm)

R_t = 12,07 min.

45 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,90 (3H, s, 18 - CH₃), 1,46 (3H, s, 19 - CH₃), 6,03 (1H, d, J = 1,8 Hz, H₄), 6,29 (1H, dd, J = 1,8, 10,0 Hz, H₂), 7,28 (1H, d, J = 10,0 Hz, H₁), residuo de glucosa: 3,75 (1H, ddd, J = 3,1, 4,0, 10,0 Hz, H₅), 4,22 (1H, dd, J = 4,0, 12,0 Hz, H_{6a}), 4,58 (1H, dd, J = 3,1, 12,0 Hz, H_{6b}), 4,99 (1H, d, J = 7,8 Hz, H₁), 5,15 (1H, t, J = 8,1, 9,8 Hz, H₂), 5,30 (1H, t, J = 9,8, 10,0 Hz, H₄), 5,50 (1H, t, J = 9,5 Hz, H₃), 8,05, 8,07, 8,10, 8,14 (cada 1H, s, OCHO x 4).

FAB - EM 745 (M + H)⁺.

Ejemplo 9 (comparativo)

Síntesis del compuesto 8 (Figura 6)

50 El compuesto 2 (0,473 g) se disolvió en piridina seca (21,7 ml), al mismo se añadió gota a gota

cloruro de 2-furoilo (0,718 ml) mientras se enfriaba en un baño de agua enfriada con hielo. El baño de agua enfriada con hielo se retiró y después de agitar a la temperatura ambiente durante 3 horas, la reacción se detuvo mediante la adición de agua. La mezcla se extrajo con cloroformo, se lavó con una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera, se secó sobre MgSO₄, y después el resultante se concentró a presión reducida. El residuo concentrado se sometió a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 0,708 g (94,0 %) del compuesto 8 en forma de un polvo de color blanco.

RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,94 (3H, s), 0,96 - 1,27 (8H, m), 1,50 (3H, s), 1,52 - 1,78 (9H, m), 1,78 - 1,86 (1H, m), 1,94 - 2,23 (3H, m), 2,31 - 2,38 (1H, m), 2,53 - 2,63 (1H, m), 3,03 - 3,07 (1H, m), 3,95 - 4,01 (1H, m), 4,24 (1H, d, J = 4,5 Hz), 4,42 - 4,58 (3H, m), 4,69 (1H, d, J = 18,7 Hz), 4,75 - 4,86 (2H, m), 5,15 (1H, d, J = 8,0 Hz), 5,39 (1H, dd, J₁ = 8,0 Hz, J₂ = 9,5 Hz), 5,60 (1H, dd, J₁ = J₂ = 9,7 Hz), 5,74 (1H, dd, J₁ = J₂ = 9,7 Hz), 6,04 (1H, s a), 6,28 - 6,33 (1H, m), 6,40 - 6,43 (1H, m), 6,45 - 6,49 (2H, m), 6,53 - 6,56 (1H, m), 7,12 - 7,18 (2H, m), 7,22 - 7,29 (2H, m), 7,37 (1H, d, J = 10,1 Hz), 7,48 - 7,51 (1H, m), 7,53 - 7,57 (2H, m), 7,59 - 7,62 (1H, m)

Ejemplo 10

Síntesis del compuesto 9 (Figura 7)

Síntesis del compuesto E: se disolvió D-fucosa (0,36 g) en ácido acético anhidro (1,97 ml), y a la misma se añadió una disolución al 33% en peso de bromuro de hidrógeno en ácido acético (0,39 ml), seguido de una agitación de la mezcla durante una noche en la oscuridad. De nuevo se añadió una disolución al 33% en peso de bromuro de hidrógeno en ácido acético (1,97 ml) a la mezcla. Después de agitar durante 7 horas, se añadió diclorometano (9,85 ml) a la misma, y la disolución obtenida se añadió a agua enfriada con hielo (9,85 ml). Después de una separación, la capa acuosa se extrajo con diclorometano. La mezcla resultante se lavó con una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y después de lavar con agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Después de la filtración, el resultante se concentró a presión reducida para obtener el compuesto E (885 mg).

Síntesis del compuesto 9: en una atmósfera de argón se disolvió el compuesto C (1 g) en diclorometano (19,5 ml) en la oscuridad, y a la misma se añadieron trifluorometansulfonato de plata (711 mg) y tamices moleculares de 4 Å (2,82 g), seguido de una agitación de la mezcla durante 10 minutos. Se añadió una disolución del compuesto F (885 mg) en diclorometano (11,7 ml), y la mezcla se calentó a temperatura ambiente con agitación durante 2 horas. Después de filtrar la mezcla, se añadió a la misma una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y después de agitar, la mezcla se separó. La disolución se lavó con salmuera saturada y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Después de filtrar, la disolución obtenida se concentró a presión reducida, el residuo se sometió a una purificación mediante una columna de gel de sílice para obtener 111 mg (28 %) del compuesto 9 en forma de un polvo de color blanco.

RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,91 (3H, s), 0,98 - 1,30 (8H, m), 1,24 (3H, d, J = 6,4 Hz), 1,45 (3H, s), 1,49 - 1,80 (10H, m), 2,00 (3H, s), 2,03 - 2,17 (3H, m), 2,13 (3H, s), 2,18 (3H, s), 2,30 - 2,40 (1H, m), 2,51 - 2,61 (1H, m), 3,76 - 3,83 (1H, m), 4,30 (1H, d, J = 4,8 Hz), 4,42 (1H, d, J = 18,4 Hz), 4,48 - 4,58 (1H, m), 4,59 (1H, d, J = 8,0 Hz), 4,62 (1H, d, J = 18,4 Hz), 4,85 (1H, d, J = 5,2 Hz), 5,12 (1H, dd, J₁ = 10,4 Hz, J₂ = 3,6 Hz), 5,20 - 5,25 (2H, m), 6,04 (1H, s a), 6,27 - 6,31 (1H, m), 7,22 (1H, d, J = 10,4 Hz)

Ejemplo 11

Síntesis del compuesto 10 (Figura 8)

Síntesis del compuesto F: se disolvió L-fucosa (1 g) en cloroformo (20 ml), y a la misma se añadieron cloruro de toluilo (7 ml) y piridina (4,5 ml), seguido de una agitación de la mezcla a temperatura ambiente durante 12 horas, llevando así a cabo la reacción. Después, la disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (200 ml) y después de una separación, la capa acuosa se extrajo dos veces con cloroformo (20 ml). El extracto de cloroformo se lavó secuencialmente con una disolución saturada de sulfato de cobre (20 ml), una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (20 ml) y salmuera saturada (20 ml), y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Entonces el cloroformo se evaporó a presión reducida para obtener 3,9 g del compuesto F en forma de cristales de color blanco.

Síntesis del compuesto G: se disolvió el compuesto F (3,9 g) en cloroformo anhidro (20 ml), y al mismo se añadió una disolución al 33 % de bromuro de hidrógeno - ácido acético (9 ml) en hielo. Después de agitar la mezcla durante 12 horas a la temperatura ambiente, la disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (300 ml) y después de agitar, la disolución mezclada se separó. La capa acuosa se extrajo dos veces con cloroformo (40 ml). Después de lavar con una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (30 ml), la capa de cloroformo se lavó con salmuera saturada. Después de secar sobre sulfato de magnesio anhidro, el resultante se evaporó a presión reducida para obtener 3,5 g del compuesto G en forma

de un polvo de color blanco.

Rf = 0,61 (n-hexano:acetato de etilo = 3:1)

5 Síntesis del compuesto H: el compuesto G (631 mg) y el compuesto C (255 mg) se disolvieron en diclorometano anhidro (5 ml), y se añadieron tamices moleculares de 4 Å (1,8 g) a los mismos. Después de
 10 agitar la mezcla en una atmósfera de gas argón a temperatura ambiente durante 15 minutos, se añadió trifluorometansulfonato de plata (209 mg) a 0 °C, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante un día en la obscuridad mientras se calentaba lentamente. Después de añadir la disolución de reacción a una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (20 ml) y después de agitar, la mezcla obtenida se extrajo dos veces con cloroformo (30 ml). Después de lavar con salmuera saturada (20 ml), la
 15 capa de cloroformo se secó sobre sulfato de magnesio anhidro (5 g), y el resultante se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a una separación y a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 623 mg (61 %) del compuesto H en forma de un polvo de color blanco.

15 Síntesis del compuesto I: se disolvió el compuesto H (1,13 g) en una disolución de metanol-THF (1:1,2 ml), y al mismo se añadió una disolución acuosa de hidróxido de sodio 1 N (0,2 ml). La mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, llevando así a cabo la reacción. A la disolución de reacción se añadió Dowex 50Wx8 (H⁺), que era una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida, en pequeñas porciones para neutralizar. Después de filtrar con succión, la disolución se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a una separación y a una purificación mediante una cromatografía en
 20 columna en gel de sílice (n-hexano-acetato de etilo = 1:1) para obtener 390 mg del compuesto I en forma de un polvo de color blanco.

25 Síntesis del compuesto 10: el compuesto I (390 mg) se disolvió en piridina (20 ml), después de añadir gota a gota ácido acético anhidro (2 ml) en pequeñas porciones a entre 0 °C y 5 °C y agitando durante 12 horas adicionales, llevando así a cabo la reacción. Se añadió metanol (10 ml) para detener la reacción, y el disolvente se evaporó. El resultante se sometió a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice (cloroformo-metanol = 10:1, 5:1) para obtener 256 mg del compuesto 10 en forma de un polvo de color blanco.

30 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,88 (3H, s, 18 - CH₃), 1,45 (3H, s, 19 - CH₃), 4,42 y 4,49 (cada 1H, d, J = 17,3 Hz, 21 - CH₂), 6,03 (1H, d, J = 1,7 Hz, H₄), 6,28 (1H, dd, J = 1,7, 10,0 Hz, H₂), 7,27 (1H, d, J = 10,0 Hz, H₁). Fracción de L - fucosa [0]: 2,00, 2,12, 2,18 (cada 3H, s, OAc x 3), 1,22 (3H, d, J = 6,3 Hz, CH₃), 3,81 (1H, dq, J = 6,3, 1,0 Hz, H₅), 4,56 (1H, d, J = 7,8 Hz, H₁), 5,04 (1H, dd, J = 3,2, 10,5 Hz, H₃), 5,23 (1H, dd, J = 8,1, 10,5 Hz, H₂), 5,04 (1H, dd, J = 3,4, 1,0 Hz, H₄).

FAB-EM 743 (M + H)⁺.

Ejemplo 12

Síntesis del compuesto 11 y del compuesto 12 (Figura 9)

35 Síntesis del compuesto J: se disolvió N-acetilglucosamina (5,0 g) en ácido acético anhidro (5 ml) y piridina (5 ml), y la reacción se realizó a la temperatura ambiente durante 16 horas con agitación. La disolución de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (300 ml) y después de agitar, la mezcla se extrajo dos veces con cloroformo (150 ml). Después de lavar con salmuera saturada (50 ml), la mezcla resultante se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y el cloroformo se evaporó a presión reducida. Se añadió éter al
 40 residuo, la disolución obtenida se dejó en reposo durante una noche en el frigorífico, produciéndose así una cristalización. Los cristales se filtraron con succión para obtener 8,7 g del compuesto J en forma de un polvo de color blanco.

45 Síntesis del compuesto K: se disolvió el compuesto J (1 g) en diclorometano anhidro (1 ml), y el resultante se añadió a un 70 % de fluoruro de hidrógeno-piridina (3 ml) en un recipiente de plástico enfriado en un baño de hielo, y la mezcla resultante se agitó durante un día mientras se devolvía lentamente la temperatura hasta la temperatura ambiente, llevando así a cabo la reacción. Después de añadir la disolución de reacción a hielo-fluoruro de potasio acuoso (200 ml) y de agitar durante una hora, la mezcla obtenida se extrajo dos veces con cloroformo (40 ml). Después de lavar secuencialmente con una disolución saturada de sulfato de cobre, una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera saturada, el resultante se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y el cloroformo se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a una separación y a una purificación mediante cromatografía en columna en gel de sílice (n-hexano-acetato de etilo = 1:1, 1:2) para obtener 458 mg (51 %) del compuesto K en forma de un polvo de color blanco.

Rf = 0,40 (n-hexano:acetato de etilo = 1:2)

55 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 2,001, 2,051, 2,053, 2,111 (cada 3H, s, Ac X 4), 4,15 (1H, m, H₅), 4,16 (1H, dd, J

= 2,2, 12,7 Hz, H6a), 4,28 (1H, dd, J = 4,3, 12,7 Hz, H6b), 4,40 (1H, m, H2), 5,22 (1H, t, J = 8,1, 9,4 Hz, H4), 5,25 (1H, t, J = 8,8, 9,6 Hz, H3), 5,65 (1H, dd, J = 2,8, 52,6 Hz, H1), 6,08 (1H, d, J = 9,0 Hz, NH).

FAB-EM 350 (M + H)⁺.

5 Síntesis del compuesto 11 y del compuesto 12: el compuesto K (242 mg) y el compuesto C (271 mg) se disolvieron en diclorometano anhidro (4 ml), y a los mismos se añadieron tamices moleculares de 4 Å (300 mg). Después de agitar la mezcla en una atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 30 minutos, se añadió gota a gota un complejo de trifluoruro de boro y éter complejo (270 ml) dividido en dos veces mientras se enfriaba en un baño de hielo salado. La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente, llevando así a cabo la reacción. La reacción se detuvo mediante la adición de una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (20 ml) y después de filtrar a través de Celita, el filtrado obtenido se extrajo tres veces con cloroformo (10 ml). Después de lavar con salmuera saturada (15 ml), el extracto de cloroformo se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y el resultante se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a una separación y a una purificación mediante una cromatografía en columna en gel de sílice (n-hexano-acetato de etilo = 1:1, 1:2) para obtener el compuesto 11 (116 mg, 25,1 %) y el compuesto 12 (139 mg, 30,1 %) en forma de un polvo de color blanco, respectivamente.

Compuesto 11

Rf = 0,15 (n-hexano:acetato de etilo = 1:2)

20 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,89 (3H, s, 18 - CH₃), 1,47 (3H, s, 19 - CH₃), 6,03 (1H, d, J = 1,8 Hz, H4), 6,29 (1H, dd, J = 1,8, 8,3 Hz, H2), 7,28 (1H, d, J = 8,3 Hz, H1). Fracción de N-acetilglucosamina; 1,988, 2,045, 2,046, 2,123 (cada 3H, s, OAc x 3, NHAc), 3,60 (1H, ddd, J = 3,9, 4,2, 9,5 Hz, H5), 4,03 (1H, m, H2), 4,26 (1H, dd, J = 12,1, 4,2 Hz, H6a), 4,31 (1H, dd, J = 12,1, 3,9 Hz, H6b), 4,76 (1H, d, J = 8,3 Hz, H1), 5,11 (1H, t, J = 9,5, 9,3 Hz, H4), 5,16 (1H, t, J = 9,5, 9,3 Hz, H3), 5,77 (3H, d, J = 8,8 Hz, NH).

FAB-EM 800 (M + H)⁺.

Compuesto 12

25 Rf = 0,23 (n - hexano:acetato de etilo = 1:2),

30 RMN-¹H (CDCl₃) δ: 0,94 (3H, s, 18 - CH₃), 1,47 (3H, s, 19 - CH₃), 6,03 (1H, d, J = 1,5 Hz, H4), 6,29 (1H, dd, J = 2,0, 10,0 Hz, H2), 7,28 (1H, d, J = 10,0 Hz, H1). Fracción de N-acetilglucosamina; 1,988, 2,045, 2,046, 2,123 (cada 3H, s, OAc x 3, NHAc), 4,05 (1H, ddd, J = 3,9, 4,2, 9,5 Hz, H5), 4,38 (1H, m, H2), 4,18 (1H, dd, J = 12,1, 4,2 Hz, H6a), 4,26 (1H, dd, J = 12,1, 3,9 Hz, H6b), 4,77 (1H, d, J = 3,7 Hz, H1), 5,16 (1H, t, J = 9,7 Hz, H4), 5,30 (1H, t, J = 9,7 Hz, H3), 6,44 (3H, d, J = 9,3 Hz, NH).

FAB-EM 800 (M + H)⁺.

Evaluación de la acción farmacológica

[Prueba del edema de oreja inducido por aceite de ricino]

35 Se usó la prueba del edema de oreja por aceite de ricino, la cual es un modelo representativo de dermatitis, para estudiar el efecto farmacológico de los compuestos de la presente invención.

(1) Método experimental

40 Se usaron cinco individuos por grupo de ratas de 5 semanas de edad (peso corporal de entre 128 g y 169 g). Un día antes de la prueba se midió el grosor de la oreja derecha bajo anestesia con éter mediante el uso de un calibre indicador del grosor, para obtener el valor previo. El día de la prueba se aplicaron 20 mg de cada uno de los ungüentos que se van a probar, que habían sido preparados en varias concentraciones en vaselina blanca, en la aurícula derecha (a ambos lados) de cada rata, y después se colocó un collar alrededor del cuello de la rata para prevenir el contacto / rascado y la eliminación del fármaco. Dos horas después se eliminó el ungüento bajo anestesia con éter mediante el uso de un algodón absorbente, y se aplicaron gota a gota 0,1 ml de una disolución al 5 % de aceite de ricino (aceite de ricino:éter:piridina:agua destilada= 1:14:4:1) a ambos lados de la aurícula mientras se secaba la disolución con un secador (aire soplado), para inducir el edema de la oreja. Seis y 24 horas después de la inducción del edema, se midió el grosor de la aurícula derecha bajo anestesia con éter, y se calcularon el índice de edema y el índice de supresión del edema según las siguientes ecuaciones, cuyo índice de supresión se muestra en la Tabla 1.

[Ecuación 1]

$$\begin{aligned} \text{Índice de edema (\%)} &= \frac{\text{grosor de la oreja derecha - valor previo}}{\text{valor previo}} \times 100 \\ \text{Índice de supresión del edema (\%)} &= 1 - \frac{\text{índice de edema medio del grupo con el fármaco aplicado (\%)}}{\text{índice de edema medio del grupo de control (\%)}} \times 100 \end{aligned}$$

(2) Resultados

5 El valor aumenta al hacerse más potente el efecto farmacológico (efecto antiinflamatorio). Los compuestos de la presente invención mostraron un potente efecto antiinflamatorio, y el efecto fue mayor que el de la budesonida y la ciclesonida, que son conocidos fármacos esteroides. Inesperadamente se observó un efecto más potente que el de la ciclesonida, que es el principal compuesto activo en el cuerpo. Por otro lado, los compuestos (compuestos de control 1 y 2) descritos en los compuestos esteroides sustituidos en 21 con glucosilo (documento WO99/47541, documento WO99/47542) no mostraron unos efectos más potentes que los de la budesonida, y por lo tanto no pudieron obtenerse unos efectos más potentes que los del principal activo en el cuerpo de la budesonida, mientras que los compuestos de la presente invención mostraron un potente efecto antiinflamatorio, el cual fue mayor que el del principal compuesto activo en el cuerpo.

A partir de estos resultados se reveló que los compuestos de la presente invención muestran un potente efecto antiinflamatorio en la dermatitis tipo.

[Prueba del granuloma inducido por aceite de ricino]

15 Usando la prueba del granuloma por aceite de ricino, que es un método de prueba con el que puede evaluarse la acción antiinflamatoria local y el efecto secundario sistémico al mismo tiempo, se estudiaron el efecto farmacológico y el efecto secundario sistémico de los compuestos de la presente invención.

(1) Método experimental

20 Se usaron cinco individuos por grupo de ratas Wistar macho con unos pesos corporales de entre 180 y 225 g, y se afeitó el pelo del dorso de estas ratas con una maquinilla bajo anestesia con éter, seguido de la preparación de una bolsa de aire mediante una inyección subcutánea de 20 ml de aire en el dorso. Al día siguiente se administró en la bolsa 1 ml de aceite de semilla de algodón que contenía un 1 % de aceite de ricino. Se suspendió cada fármaco de prueba en el aceite de semilla de algodón que contenía el aceite de ricino antes de su administración. Siete días después se extrajo sangre de la aorta abdominal bajo anestesia con éter, y se recogió el exudado de la bolsa y se midió la cantidad de fluido. Además, se extrajo el timo y se midió su peso. El peso del exudado y del peso del timo se muestran en la Tabla 2 como el índice de supresión y el índice de atrofia (%) con respecto a los del grupo de control.

(2) Resultados

30 Como un índice de la actividad farmacológica (efecto antiinflamatorio) se midió el efecto de supresión del exudado, y como un índice del efecto secundario sistémico, se midió el efecto de atrofia del timo. En términos de atrofia del timo, la budesonida y la ciclesonida, que son conocidos fármacos esteroides, provocaron una atrofia no inferior al 20 % con una dosis de 0,1 mg/rata, y causaron una atrofia evidente no inferior al 80 % con una dosis de 1 mg/rata. Además, los compuestos de control causaron una atrofia no inferior al 20 % con una dosis de 1 mg/rata. Por otro lado, los compuestos de la presente invención no causaron una atrofia no inferior al 20 %. Además, en términos del efecto de supresión del exudado, que es un índice del efecto farmacológico, los compuestos de la presente invención mostraron una potente acción antiinflamatoria que fue más débil que la de los fármacos esteroides conocidos, pero la misma o mayor que la de los compuestos de control. Para un producto farmacéutico, el equilibrio entre los efectos principales y los efectos secundarios sistémicos es importante. Los compuestos de la presente invención mostraron un efecto antiinflamatorio más potente que el de los compuestos de control, y no se observó una atrofia del timo, que es un índice del efecto secundario sistémico, por lo que se reveló que los compuestos de la presente invención son fármacos esteroides antiinflamatorios seguros con menos efectos secundarios sistémicos.

[Prueba de la dermatitis inducida por DNCB]

45 Se usó la prueba de la dermatitis inducida por DNCB, que es un modelo representativo de dermatitis alérgica, para estudiar el efecto farmacológico del compuesto de la presente invención.

(1) Método experimental

Se afeitó el pelo abdominal de ratas (con un peso corporal de entre 205 y 230 g) bajo anestesia con isoflurano con una maquinilla eléctrica y una rasuradora, y se preparó una región de prueba con un tamaño de 3 cm x 4 cm, seguido de la aplicación de 0,4 ml de una disolución al 1 % de DNCB / acetona en el interior de la región, para llevar a cabo la sensibilización. Dos semanas después se aplicó 1 ml de una disolución al 1 % de DNCB / acetona en el interior de la región para causar una inducción, y 4 días después se realizó la reinducción. Dos días después de la reinducción, se extrajo la piel de la región de prueba y se perforaron 5 posiciones predeterminadas mediante el uso de un punzón con un diámetro de 12 mm, seguido de la medición del grosor de la piel mediante el uso de un calibre indicador del grosor. Además, para investigar la influencia de los efectos secundarios, se extrajo el timo para medir su peso. La aplicación del fármaco de prueba se realizó 4 horas después de la primera inducción de dermatitis, de forma que se aplicaron uniformemente 0,1 ml del ungüento sobre la región de prueba. A continuación se aplicó el fármaco de prueba una vez al día, un total de 6 veces hasta el día siguiente a la reinducción (el día anterior a la extracción de la piel). El grosor de la piel y el peso del timo se muestran en la Tabla 3 como el índice de supresión y el índice de atrofia (%) con respecto a los del grupo de control.

(2) Resultados

Se midió el grosor de la piel como un índice de la actividad farmacológica (efecto antiinflamatorio), y se midió el efecto de atrofia del timo como un índice de los efectos secundarios sistémicos. Mediante la aplicación de DNCB a un animal sensibilizado con DNCB, se indujo una dermatitis y el grosor de la piel aumentó. Al aumentar la actividad farmacológica (efecto antiinflamatorio), disminuye el grosor de la piel. Los compuestos de la presente invención mostraron una potente acción antiinflamatoria frente a la del 0,12 % del ungüento de valerato de betametasona y el 0,05 % del ungüento de butirato propionato de betametasona, que se usan como agentes terapéuticos para la dermatitis. Además, en términos de la atrofia del timo, se observó una atrofia del timo de aproximadamente el 50 % con un 0,12 % del ungüento de valerato de betametasona, y de un 0,05 % del ungüento de butirato propionato de betametasona, pero no se observó atrofia del timo con los compuestos de la presente invención. Para un producto farmacéutico, el equilibrio entre los efectos principales y los efectos secundarios sistémicos es importante. Los compuestos de la presente invención mostraron un efecto antiinflamatorio más potente que el de los compuestos de control, y no se observó una atrofia del timo, que es un índice del efecto secundario sistémico, por lo que se reveló que los compuestos de la presente invención son fármacos esteroides antiinflamatorios seguros con menos efectos secundarios sistémicos.

Basándonos en una evaluación global de los resultados de la prueba del edema de oreja inducido por aceite de ricino, de la prueba del granuloma inducido por aceite de ricino y de la prueba de la dermatitis inducida por DNCB, se reveló que los compuestos de la presente invención son fármacos esteroides antiinflamatorios seguros con menos efectos secundarios sistémicos y que muestran un efecto potente, especialmente mediante su administración externa.

[Cantidad de producción del metabolito activo en la piel inflamada y en la piel no inflamada]

Los compuestos de la presente invención tienen la característica ventajosa de que muestran el efecto farmacológico después de haber sido metabolizados a un metabolito activo (desciclesonida) en el sitio de la inflamación. Se comparó la cantidad de metabolito activo producida cuando se aplicó el compuesto de la presente invención en la piel inflamada (piel con una dermatitis inducida por DNCB) o sobre la piel no inflamada (piel normal).

(1) Método experimental

Usando como región de prueba un área de 3 cm x 4 cm del abdomen de una rata sin pelo de 9 semanas de edad, se aplicaron 0,4 ml de una disolución al 1 % de DNCB / acetona en el interior de la región bajo anestesia por isoflurano, para llevar a cabo la sensibilización. Dos semanas después se aplicó 1 ml de una disolución al 1 % de DNCB / acetona en el interior de la región para provocar la inducción, y 48 horas después, se aplicaron uniformemente 0,1 ml de un fármaco de prueba (ungüento al 0,1 %) en la región de prueba. La piel se extrajo 48 horas después del comienzo de la aplicación del fármaco de prueba. Por otro lado, el fármaco de prueba también se aplicó en un animal normal el cual no había sido sometido a la sensibilización y la inducción, y la piel se extrajo 48 horas después. La piel se perforó mediante el uso de un punzón con un diámetro de 12 mm, y se cortó con unas tijeras, seguido de la adición de acetonitrilo al 50 % en una cantidad de 5 ml por 1 g, y la homogeneización del resultante con Polytron. Después de una centrifugación (10.000 g, 4 °C, 5 min), el sobrenadante de la centrifuga se sometió a una cuantificación de la cantidad de metabolito activo (desciclesonida) mediante el uso de CL / EM / EM. La cantidad de metabolito activo en la piel se convirtió en la cantidad de fármaco por 1 g de piel, cantidad que se muestra en la Tabla 4.

(2) Resultados

5 Los compuestos de la presente invención se aplicaron una vez en la piel inflamada o en la piel no inflamada, y se midió la cantidad de metabolito activo 48 horas después. Como resultado, en la piel inflamada, la cantidad de metabolito activo observada fue aproximadamente 10 veces mayor que la de la piel no inflamada.

10 Los compuestos de la presente invención tienen la característica de que los propios compuestos no tienen actividad esteroidea y son convertidos *in vivo* en metabolitos activos con actividad esteroidea. Un ungüento esteroide habitual muestra una extensión similar del efecto farmacológico (acción antiinflamatoria, acción citostática, acción inmunosupresora, y similares) en la piel inflamada y en la piel no inflamada. Sin embargo, se demostró que los compuestos de la presente invención muestran diferentes cantidades de metabolito en la piel no inflamada y en la piel inflamada, y en la piel inflamada, donde se espera el efecto antiinflamatorio, la cantidad de metabolito activo es mayor y se obtiene el efecto antiinflamatorio, mientras que en la piel no inflamada (piel normal), donde no es necesario el efecto antiinflamatorio, la cantidad de metabolito activo es menor, por lo que los efectos secundarios locales son menos graves. A partir de estos hechos se reveló que los compuestos de la presente invención tienen la característica ventajosa de que los efectos secundarios locales se reducen mediante un ajuste de la cantidad del metabolito activo dependiendo de la presencia o la ausencia de inflamación en la piel.

ES 2 471 145 T3

Tabla 1

| Compues- to de prueba | Índice de supresión del edema 6 horas des- pués de la administración del agente inflama- torio (%) | | | | Índice de supresión del edema 24 horas des- pués de la administración del agente inflama- torio (%) | | | |
|--------------------------------|--|-------|------|------|---|-------|------|------|
| | Concentración del ungüento administrado (%) | | | | Concentración del ungüento administrado (%) | | | |
| | 0 | 0,001 | 0,01 | 0,1 | 0 | 0,001 | 0,01 | 0,1 |
| Vaselina | 6,3 | - | - | - | 5,6 | - | - | - |
| Compues- to 3 | - | 50,3 | 46,1 | 51,7 | - | 48,1 | 58,0 | 56,0 |
| Compues- to 2 | - | 13,5 | 36,8 | 50,2 | - | 12,5 | 38,2 | 49,5 |
| Compues- to 4 | - | 30,8 | 46,3 | 54,4 | - | 33,8 | 70,2 | 71,7 |
| Compues- to 5 | - | 21,7 | 61,5 | 57,6 | - | 11,1 | 48,1 | 52,3 |
| Compues- to 6 | - | 27,5 | 53,1 | 53,1 | - | 30,5 | 45,8 | 55,1 |
| Compues- to 7 | - | 42,3 | 49,7 | 48,5 | - | 52,0 | 53,4 | 53,5 |
| Compues- to 8 | - | 24,2 | 36,0 | 33,4 | - | 25,9 | 40,1 | 49,6 |
| Compues- to 9 | - | 24,6 | 36,7 | 23,0 | - | 17,8 | 8,6 | 21,6 |
| Compues- to 10 | - | 42,4 | 55,9 | 38,9 | - | 45,8 | 33,2 | 39,9 |
| Compues- to 11 | - | 24,5 | 19,0 | 33,6 | - | 39,4 | 26,5 | 48,0 |
| Compues- to 12 | - | 29,9 | 16,7 | 12,4 | - | 36,6 | 29,6 | 9,1 |
| Budeso- nida | - | 11,8 | 32,3 | 48,1 | - | 7,6 | 33,5 | 45,1 |
| Ciclesoni- da | - | 9,1 | 30,3 | 49,4 | - | 9,4 | 24,5 | 43,5 |
| Compues- to de control 1 | - | 4,3 | 13,8 | 20,0 | - | 4,7 | 8,4 | 24,2 |
| Compues- to de control 2 | - | 0,0 | 6,4 | 23,3 | - | 0,0 | 1,8 | 11,4 |

Tabla 2

| Compuesto de prueba | Índice de supresión de exudados (efecto farmacológico) | | | | Índice de atrofia del timo (efectos secundarios sistémicos) | | | |
|------------------------|--|------|------|------|---|------|------|------|
| | Dosis del compuesto de prueba (mg/rata) | | | | Dosis del compuesto de prueba (mg/rata) | | | |
| | 0,001 | 0,01 | 0,1 | 1 | 0,001 | 0,01 | 0,1 | 1 |
| Compuesto 3 | 7,9 | 41,6 | 92,7 | 96,3 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 2,4 |
| Compuesto 4 | 17,9 | 44,5 | 87,0 | 94,5 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Compuesto 5 | 17,8 | 14,3 | 40,4 | 91,4 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Compuesto 6 | 0,0 | 12,0 | 31,2 | 71,9 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Compuesto 7 | 8,7 | 52,4 | 59,4 | 76,8 | 2,9 | 0,0 | 5,8 | 19,5 |
| Compuesto 8 | 19,1 | 42,1 | 78,0 | 95,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,5 |
| Compuesto 9 | 10,4 | 7,3 | 26,1 | 58,2 | 12,2 | 10,8 | 9,4 | 15,5 |
| Compuesto 10 | 4,6 | 0,0 | 4,8 | 5,3 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Compuesto 11 | 13,1 | 21,2 | 66,0 | 93,4 | 3,9 | 7,9 | 10,8 | 16,0 |
| Compuesto 12 | 3,6 | 0,0 | 0,0 | 76,5 | 0,0 | 5,8 | 17,7 | 8,0 |
| Budesonida | 10,8 | 66,9 | 91,6 | 94,3 | 7,3 | 17,7 | 74,5 | 87,5 |
| Budesonida (R) | 7,6 | 44,9 | 88,4 | 93,0 | 15,6 | 25,8 | 74,5 | 90,2 |
| Ciclesonida | 62,8 | 93,5 | 93,0 | 92,6 | 6,0 | 13,0 | 23,6 | 84,4 |
| desCIC | 62,0 | 74,1 | 92,7 | 94,1 | 0,0 | 11,7 | 22,4 | 86,4 |
| Compuesto de control 1 | 0,0 | 19,5 | 91,3 | 96,2 | 7,3 | 9,3 | 12,3 | 40,0 |
| Compuesto de control 2 | 0,0 | 29,3 | 93,3 | 94,4 | 9,7 | 14,3 | 15,8 | 27,0 |

Tabla 3

| [Prueba de dermatitis inducida por DNCB] | | | |
|--|---------------------------|--|---|
| Compuesto de prueba | Concentración del fármaco | Índice de supresión del grosor de la piel (efecto farmacológico) (%) | Índice de atrofia del timo (efectos secundarios sistémicos) (%) |
| Compuesto 3 | 0,01 % | 46,1 | 0,0 |
| Compuesto 3 | 0,10 % | 60,5 | 0,0 |
| Ungüento de Rinderon V | 0,12 % | 40,8 | 50,9 |
| Ungüento de Antebate | 0,05 % | 46,1 | 49,1 |

Tabla 4

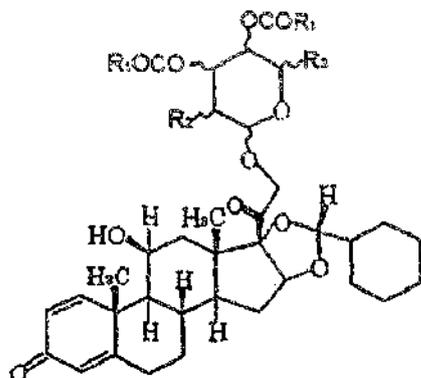
| [Cantidad de producción del metabolito activo en la piel inflamada y en la piel no inflamada] | |
|---|---|
| Piel | Concentración farmacológica del metabolito (compuesto C), 48 horas después de haber aplicado una vez el fármaco de prueba (compuesto 3) |

ES 2 471 145 T3

| | |
|---------------------------------|--------------------|
| Piel no inflamada (piel normal) | 119 ± 48 (ng/g) |
| Dermatitis inducida por DNCB | 1.272 ± 276 (ng/g) |
| Media ± D. T. | |

REIVINDICACIONES

1. Compuesto esteroide de la Fórmula (1):



(1)

- 5 [en la que R₁ representa un grupo seleccionado de entre el grupo que consiste en H, CH₃, C₂H₅, C₃H₇ y CH (CH₃)₂, R₂ representa un grupo seleccionado de entre NH₂, NHAc y OCOR₁, R₃ representa un grupo seleccionado de entre el grupo que consiste en CH₃, COOCH₃ y CH₂OCOR₁.]
2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R₂ es OCOR₁ y R₃ es CH₂OCOR₁.
3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que R₁ es CH₃.
4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que dicho R₁ es H.
- 10 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que dicho R₁ es C₂H₅.
6. Un agente antiinflamatorio que comprende como ingrediente eficaz el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
7. El agente antiinflamatorio según la reivindicación 6, que es una preparación externa.
- 15 8. El agente antiinflamatorio según la reivindicación 7, el cual es un agente terapéutico para el asma que va a ser administrado mediante inhalación, un agente terapéutico para la rinitis alérgica que va a ser administrado mediante administración intranasal, un agente terapéutico para la artritis o la dermatitis que va a ser administrado mediante aplicación tópica, o un agente terapéutico para enfermedades inflamatorias oculares externas que va a ser administrado mediante instilación.
- 20 9. Un agente terapéutico para la artritis, que comprende como ingrediente eficaz el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
10. Un agente terapéutico para la colitis ulcerosa, que comprende como ingrediente eficaz el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

FIG. 1

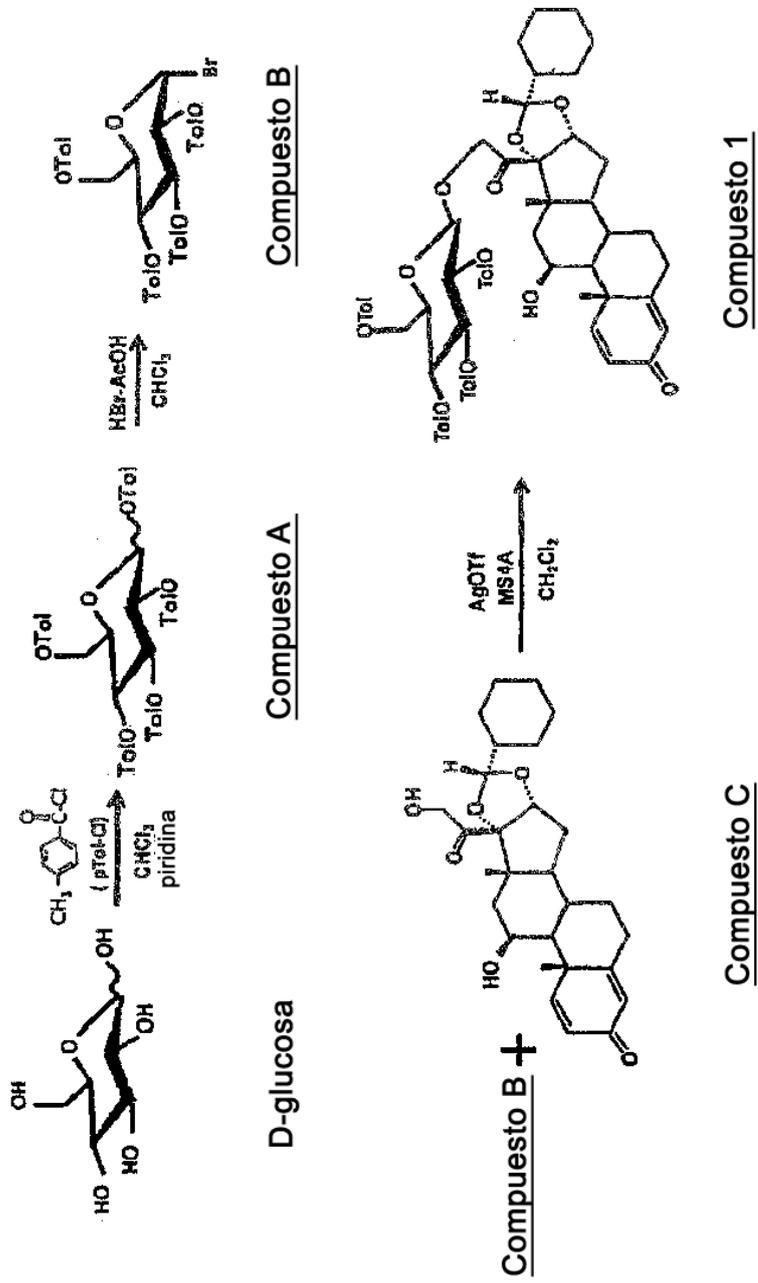
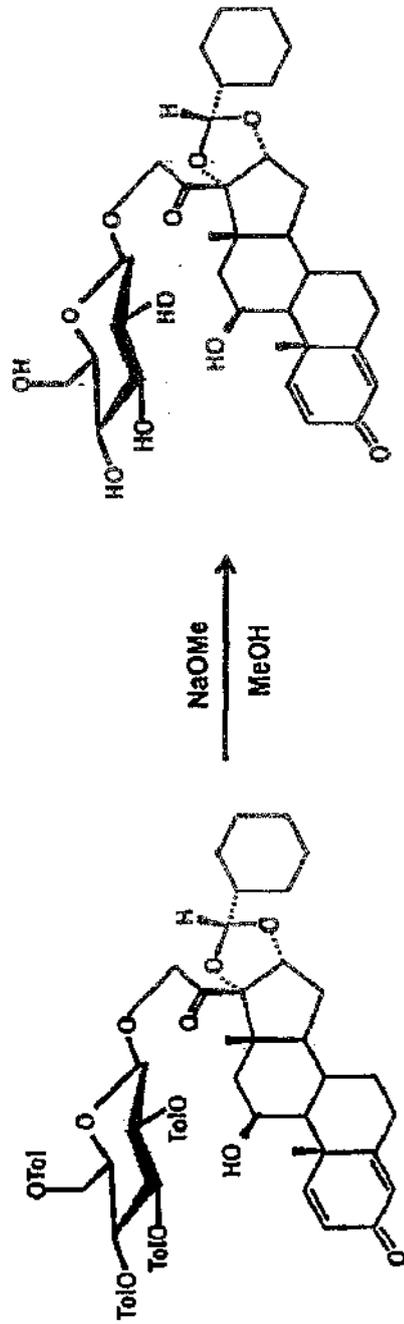


FIG. 1

FIG. 2



Compuesto 2

Compuesto 1

FIG. 2

FIG. 3

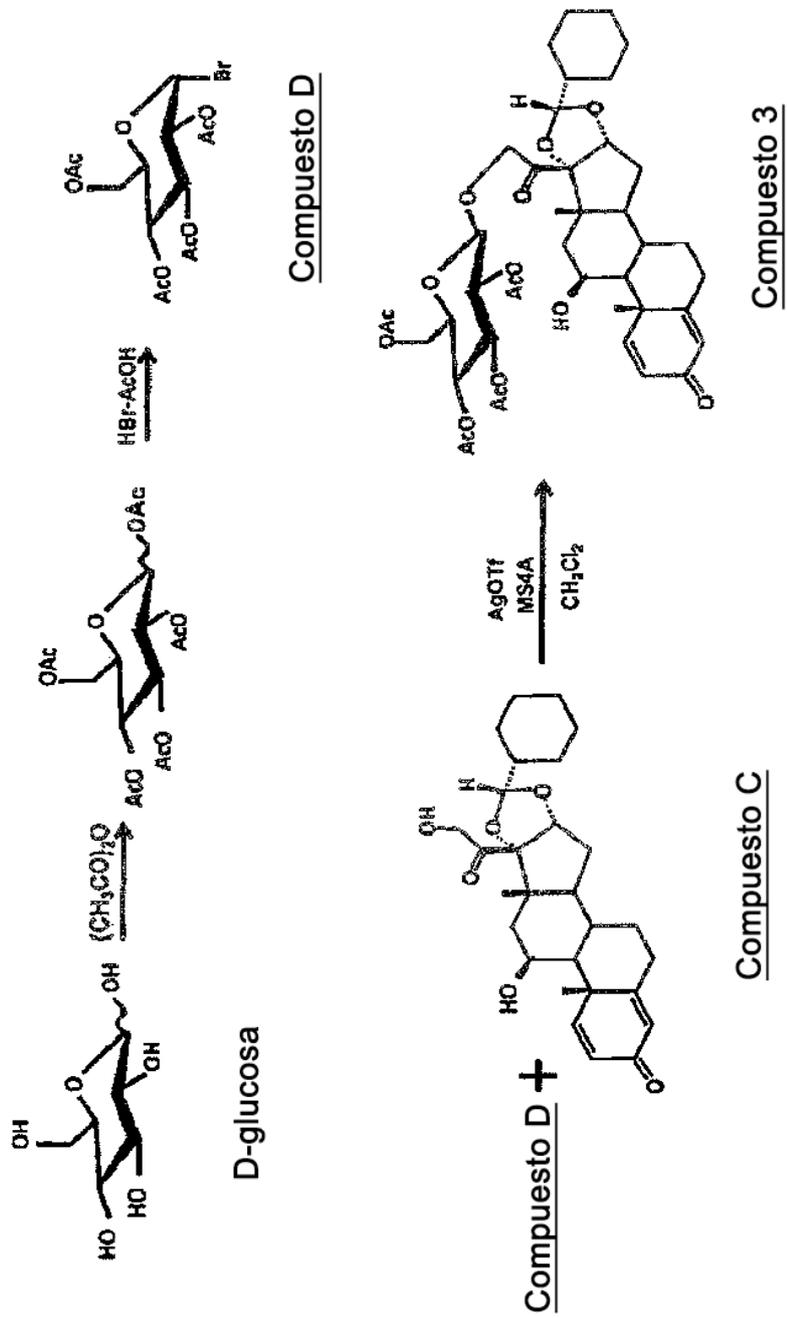


FIG. 3

FIG. 4

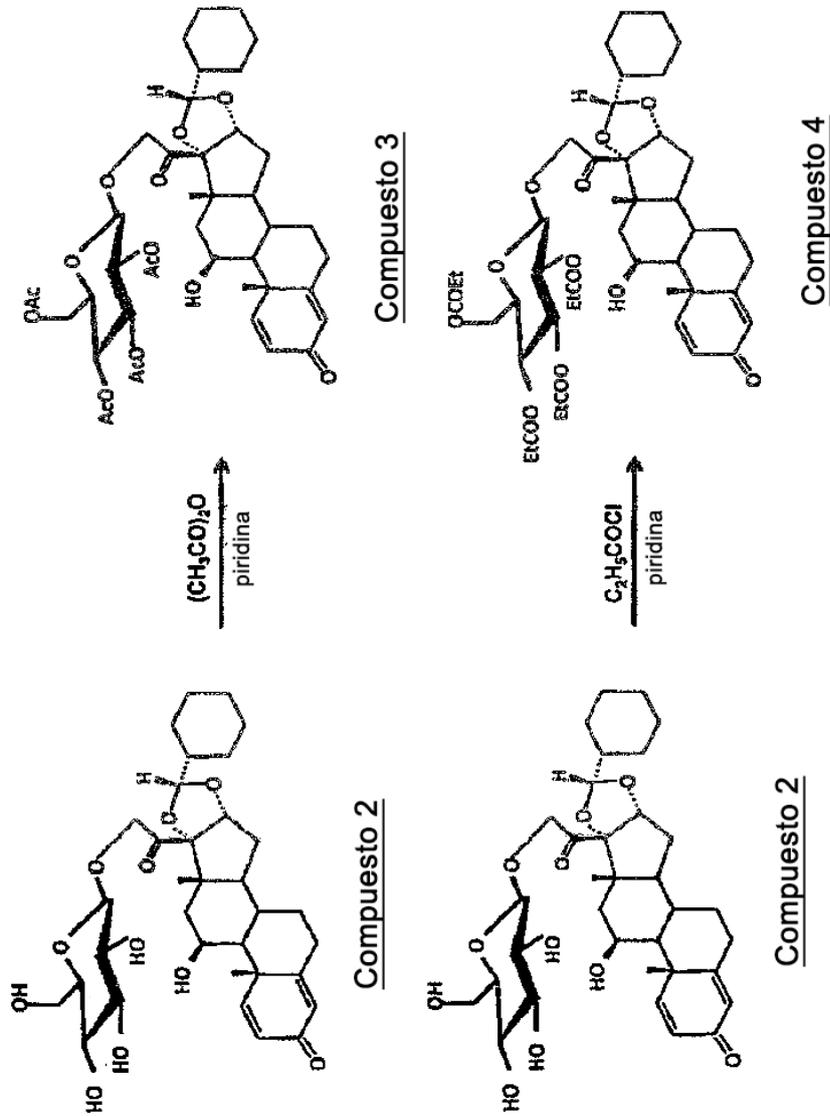


FIG. 4

FIG. 5

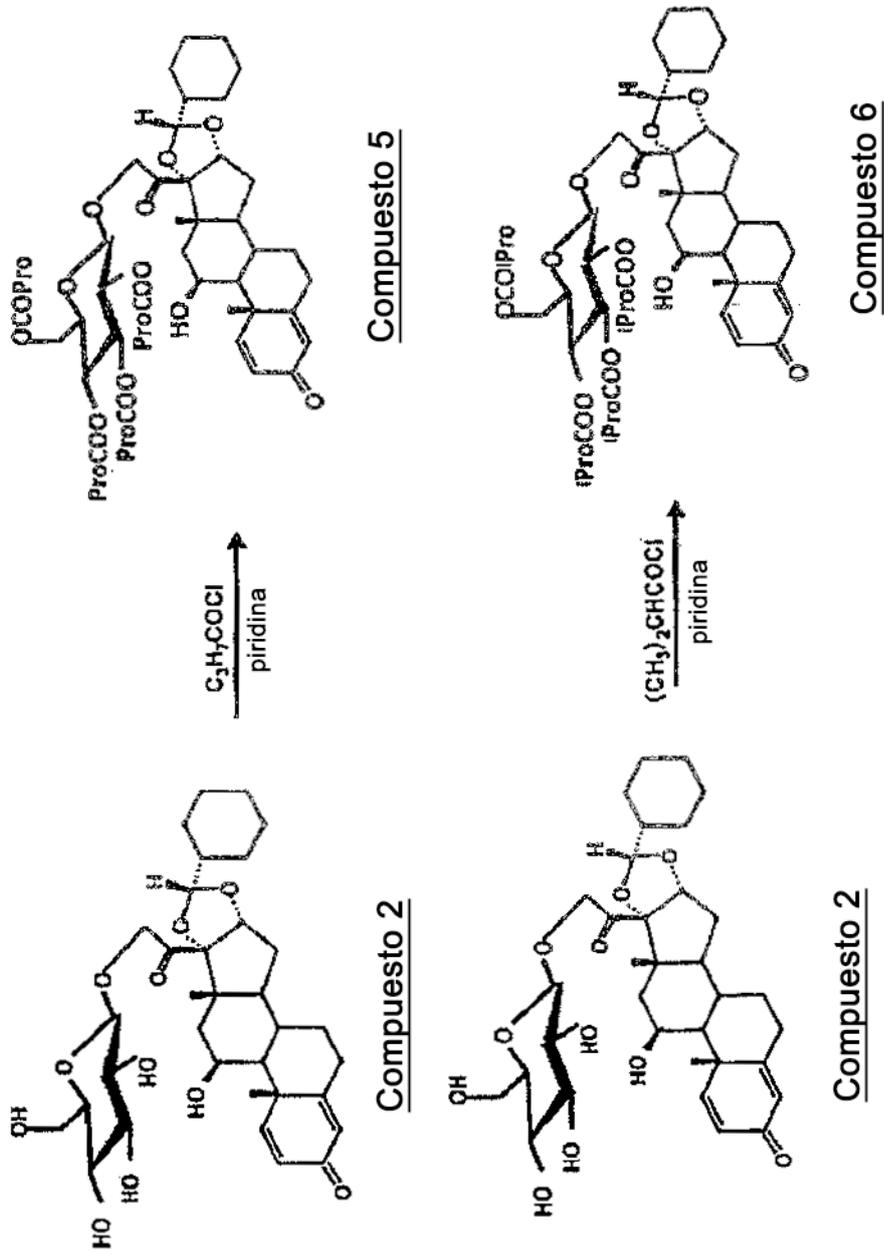


FIG. 5

FIG. 6

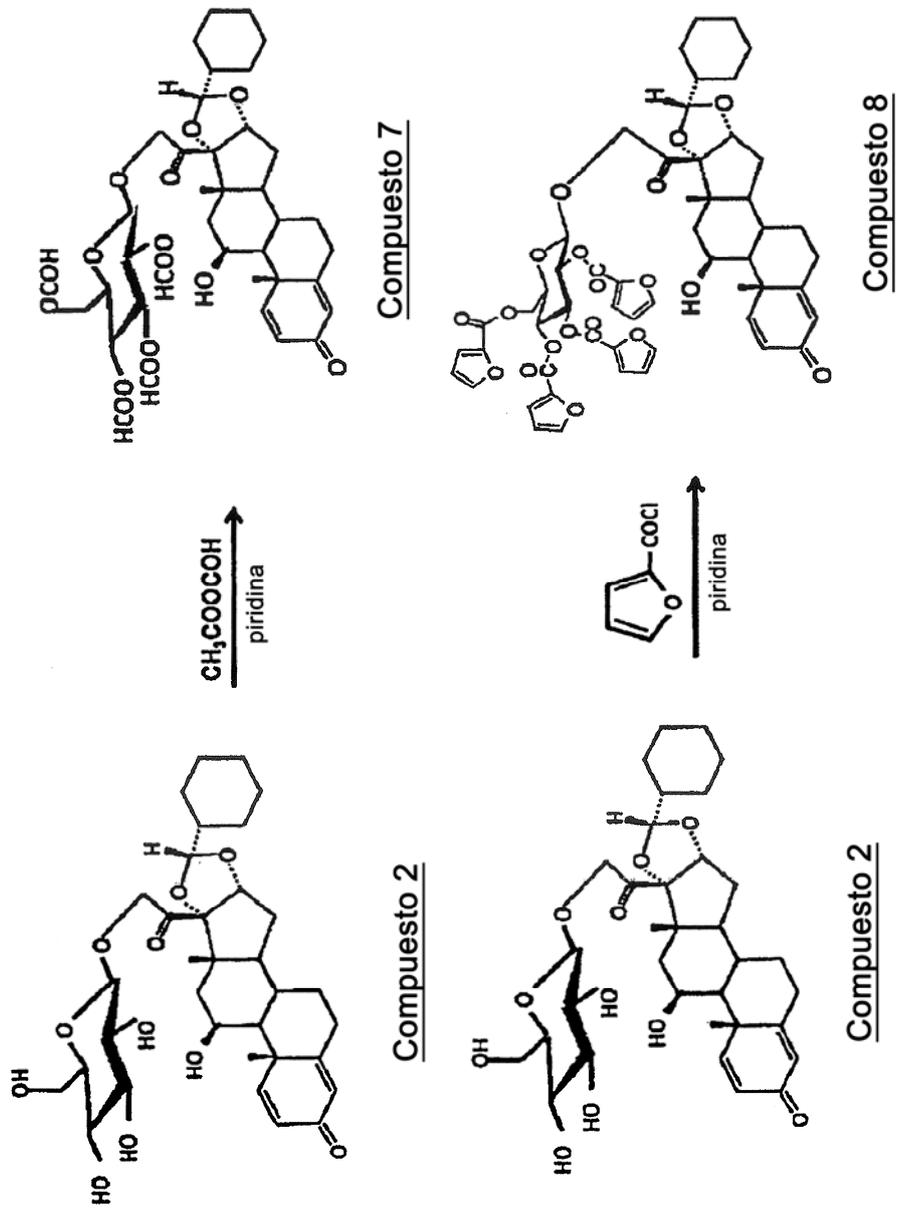


FIG. 6

FIG. 7

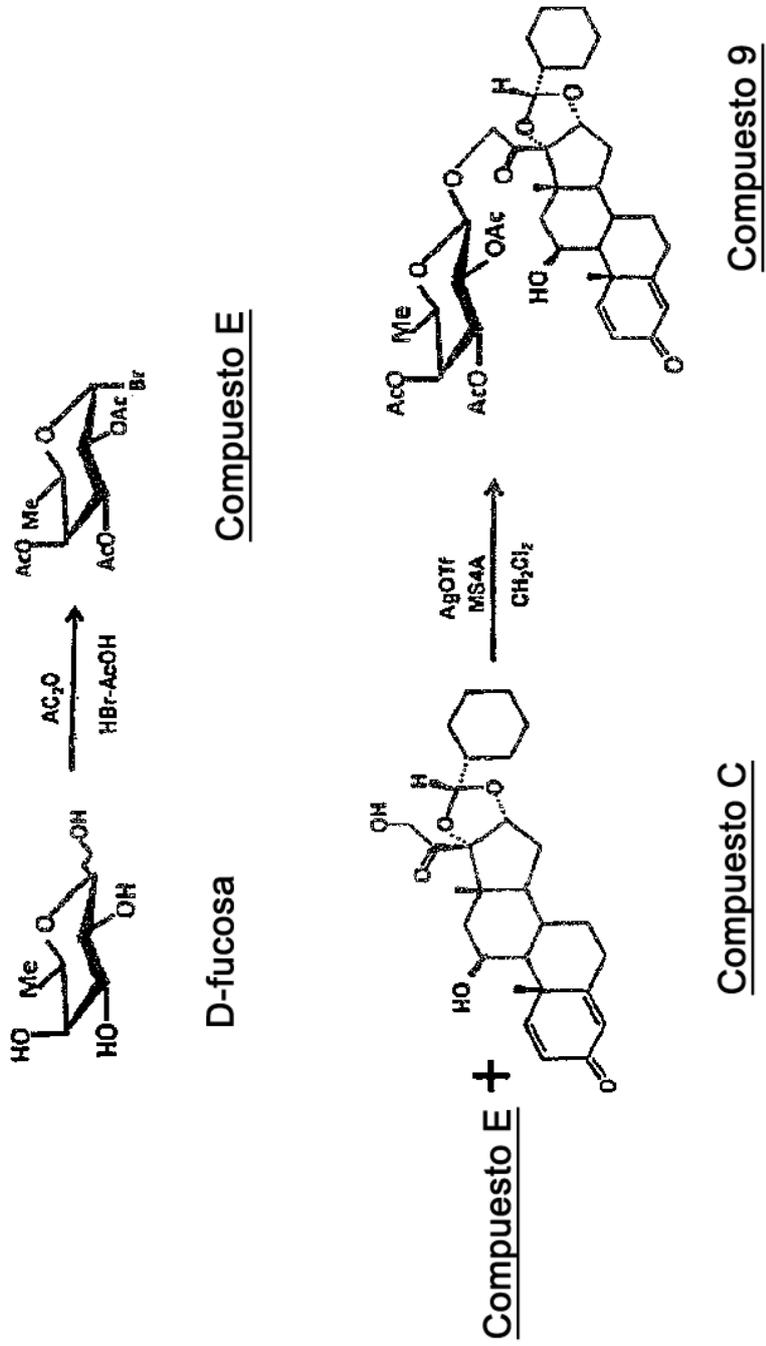


FIG. 7

FIG. 8

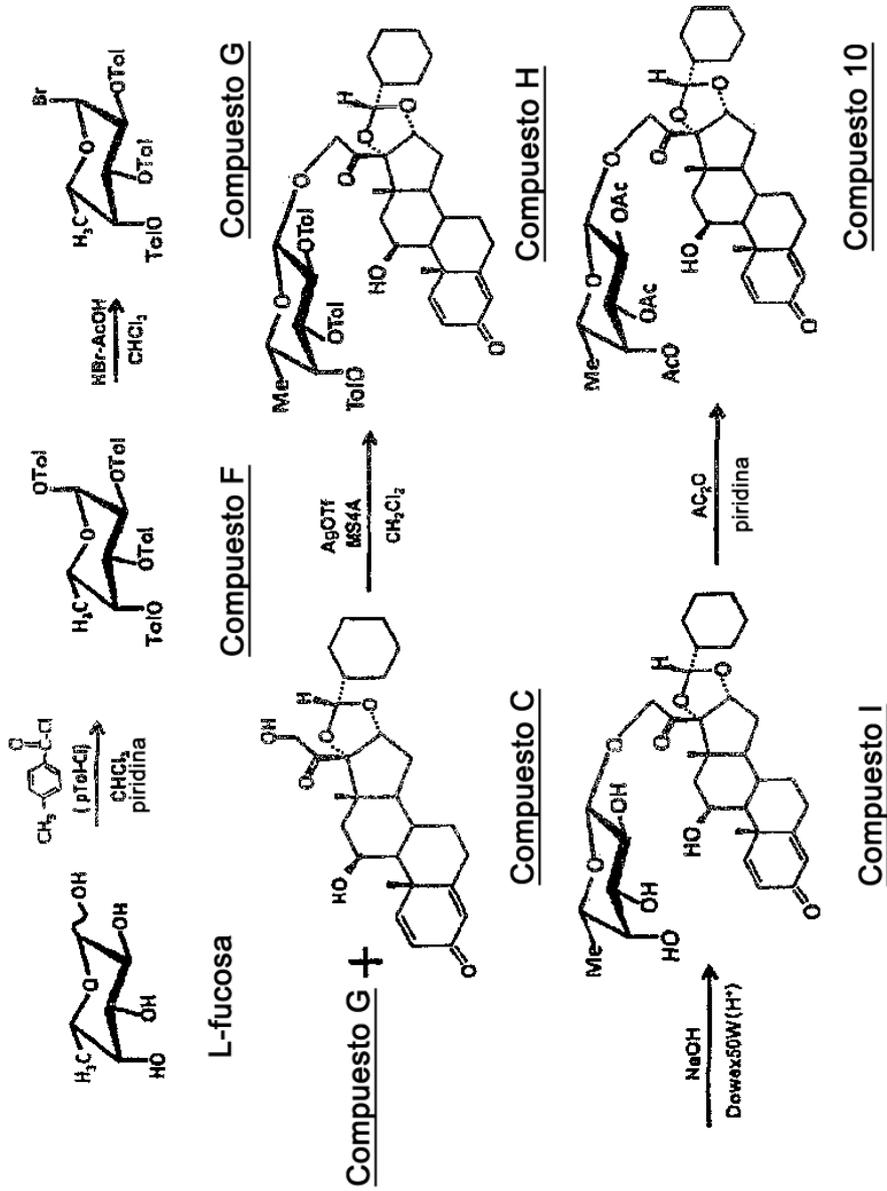
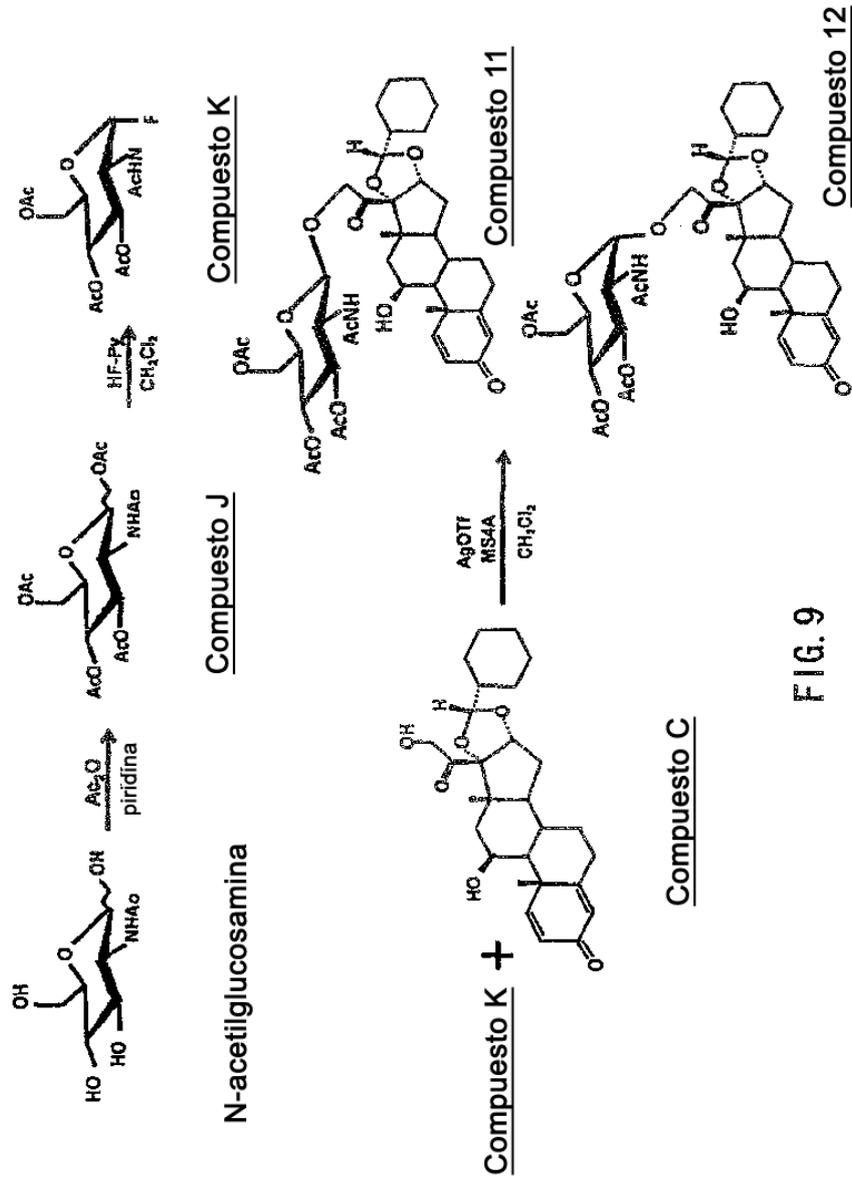


FIG. 8

FIG. 9



DOCUMENTOS INDICADOS EN LA DESCRIPCIÓN

En la lista de documentos indicados por el solicitante se ha recogido exclusivamente para información del lector, y no es parte constituyente del documento de patente europeo. Ha sido recopilada con el mayor cuidado; sin embargo, la EPA no asume ninguna responsabilidad por posibles errores u omisiones.

Documentos de patente indicados en la descripción

- GB 1015396 A [0003]
- WO 9509177 A [0003]
- WO 9947541 A [0003] [0051]
- WO 9947542 A [0003] [0051]

Literatura no especificada en la descripción de la patente

- *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, vol. 86, 3903-4 [0004]
- *Biochemical Pharmacology*, 2007, vol. 73 (10), 1657-1664 [0004]