

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 522 971**

51 Int. Cl.:

C07D 405/06 (2006.01)

A61K 31/5585 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.09.2009 E 09813071 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.08.2014 EP 2343292**

54 Título: **Nuevo derivado de la prostaglandina I₂**

30 Prioridad:

10.09.2008 JP 2008232133

16.07.2009 JP 2009168193

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

19.11.2014

73 Titular/es:

ASAHI GLASS COMPANY, LIMITED (50.0%)

5-1, Marunouchi 1-chome

Chiyoda-ku, Tokyo 100-8405 , JP y

KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

MURATA, TAKAHIKO;

AMAKAWA, MASAHIRO;

TERADAIRA, SHIN;

MATSUMURA, YASUSHI y

KONISHI, KATSUHIKO

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 522 971 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

Nuevo derivado de la prostaglandina I₂

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a un derivado de 7,7-difluoroprostaglandina I₂ en el que el grupo carboxi en C-1 de la prostaglandina está sustituido por un grupo tetrazol, y dos átomos de flúor están unidos en C-7 del mismo, y un medicamento que comprende el mismo como principio activo, específicamente, el medicamento para la profilaxis o tratamiento de una enfermedad inflamatoria del intestino.

Antecedentes de la invención

10 La inflamación del tubo digestivo se observa en la cavidad de la boca, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y ano, e incluye inflamación aguda e inflamación crónica. Cuando los epitelios de la mucosa son afectados por estímulos físicos o químicos, o se infectan por bacterias o virus, se induce inflamación, y se producen erosiones o lesiones ulcerosas dependiendo del nivel de inflamación. La excesiva secreción de ácido gástrico debido a un estrés produce gastritis, úlcera gástrica o úlcera duodenal. Además, el consumo excesivo de alcohol induce congestión de la circulación sanguínea en la mucosa o reflujo de ácido gástrico debido a la reducida motilidad del estómago, causando así gastritis, úlcera gástrica, úlcera duodenal o esofagitis. Los pacientes ortopédicos, pacientes con artritis reumatoide y similar bajo una administración a largo plazo de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo sufren úlcera gástrica o úlcera duodenal inducida por los fármacos. Además, los pacientes con cáncer desarrollan enteritis por radiación con radioterapia o enteritis inducida por los fármacos con tratamiento con fármacos antineoplásicos. Además, los pacientes infectados con tuberculosis, disentería amebiana y similar desarrollan enterogastritis infecciosa tal como tuberculosis intestinal y colitis amebiana. Además de estos, se desarrollan enteritis isquémica y similar por isquemia debido a la obstrucción de la circulación sanguínea. Si la inmunidad de pacientes con inflamación del tubo digestivo es anormal, incluso cuando la causa se elimina, se previene la reparación del órgano y las afecciones se vuelven crónicas. De estas enfermedades inflamatorias del tubo digestivo, las enfermedades con inflamación en el intestino se denominan enfermedad inflamatoria del intestino en sentido amplio.

25 Por otra parte, hay enfermedades intestinales inflamatorias de causa no identificada. La colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn son dos enfermedades muy conocidas, que son enfermedad inflamatoria del intestino en sentido estricto. Además, también incluye enfermedades similares tales como enfermedad de Behcet intestinal y úlcera simple. Son enfermedades gastrointestinales crónicas intratables junto con remisión y recaída repetidas, en las que se considera que la principal etiología de la enfermedad es la menos protección del epitelio intestinal, o respuesta inmunitaria intestinal anormal contra bacterias entéricas que entran en los tejidos intestinales.

35 La colitis ulcerosa es una enfermedad del colon crónica en la que se forman erosiones y úlceras en la mucosa del intestino grueso continuamente desde el recto, y síntomas de la misma incluyen dolor abdominal, diarrea, heces con sangre, fiebre y similares. Por otra parte, en la enfermedad de Crohn, puede producirse una lesión en cualquier parte del tubo digestivo desde la cavidad de la boca hasta el intestino grueso y el ano. Esta enfermedad se caracteriza por úlcera longitudinal discontinua y aspecto similar a empedrado en el tubo gastrointestinal, y los síntomas de la misma incluyen dolor abdominal, diarrea, fiebre, desnutrición debido a la malabsorción de nutrientes, anemia, y similares.

40 Para la profilaxis y/o el tratamiento de inflamación en enfermedades inflamatorias del tubo digestivo, en caso de con una causa conocida, la causa se elimina o suprime. Por ejemplo, se usan antiácido, agente anticolinérgico, antagonista de receptores de la histamina H₂, inhibidor de la bomba de protones y similares contra la inflamación en gastritis, úlcera gástrica, úlcera duodenal y similares para suprimir la secreción y acciones del ácido gástrico. En otros casos, se usan derivados de prostaglandina E y similares para suplementar la prostaglandina E para la inflamación inducida por un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, que inhibe la producción de PGE.

45 Por otra parte, la profilaxis o tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino en un sentido estricto incluye farmacoterapia, terapia nutricional (dieta) y terapia quirúrgica. Para la farmacoterapia, se usan preparaciones de ácido 5-aminosalicílico (pentasa, salazopirina), esteroides (prednisolona), inmunosupresores (azatiopurina, mercaptopurina y tacrolimus), anticuerpos anti-TNF- α (infliximab) y similares.

50 Se ha informado de los derivados de PG que tienen un grupo tetrazol en lugar del grupo carboxi en C-1 de la prostaglandina (denominada en lo sucesivo PG) en los siguientes documentos de patente 1, 2 y documento de no patente 1.

Además, se ha informado de análogos de 7,7-difluoro PGI₂ y procedimientos de fabricación de los mismos (documentos de patente 3 y 4). Además, se describen análogos de 7,7-difluoro PGI₂ por ser útiles como agentes profilácticos o terapéuticos para enfermedades cardiovasculares.

[Documentos de la técnica anterior]

[Documentos de patente]

documento de patente 1: DE 2405255

documento de patente 2: WO 03/103664

5 documento de patente 3: JP-A-7-330752

documento de patente 4: JP-A-2004-256547

[Documentos no de patente]

documento no de patente 1: J. Med. Chem., 22: 1340 (1979).

10 El documento EP 0 669 329 describe la producción de difluoroprostaciclina de una fórmula específica, un procedimiento de producción respectivo y el uso médico de las mismas para suprimir la aglutinación de la sangre.

En C. G. Wermuth, "The practice of Medicinal Chemistry", Academic Press, grupos tetrazol se describen como un ejemplo para un análogo isótero al grupo carboxilato.

El documento EP 0 299 533 se refiere a guanidinas sustituidas que contienen un resto de tetrazol para su uso como edulcorantes de alta potencia.

15 **[Compendio de la invención]**

Problemas a resolver por la invención

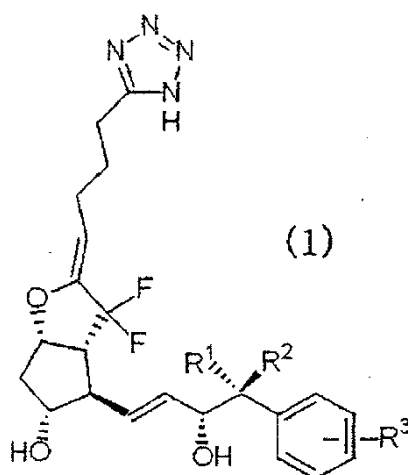
La presente invención tiene como objetivo proporcionar un nuevo derivado de la prostaglandina I₂, que es diferente de los análogos de PGI₂ conocidos, como se ha descrito anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 **Medios de resolución de los problemas**

En un intento por resolver los problemas anteriormente mencionados, los presentes inventores han sintetizado nuevos análogos de PG conferidos con propiedades particulares de átomo de flúor y se realizaron estudios para aclarar la propiedad y actividad fisiológica de los mismos. Como resultado, los inventores han encontrado que un nuevo derivado de 7,7-difluoro PGI₂, en el que el grupo carboxi en C-1 del esqueleto de ácido prostanoico está sustituido por un grupo tetrazol y están unidos dos átomos de flúor, es excelente en la propiedad y acción farmacológica, y que es un excelente producto químico como medicamento, que produjo la completitud de la presente invención.

Por lo que respecta a los presentes inventores, no se han publicado análogos de PGI₂ que tienen un grupo tetrazol en lugar del grupo carboxi en C-1 de PG, además, no se han publicado en absoluto ejemplos sintéticos, propiedad, actividad fisiológica y similares de análogos de PGI₂ en los que C-1 de PG es un grupo tetrazol y dos átomos de flúor están presentes en C-7 de PG.

Por tanto, la presente invención proporciona un derivado de 7,7-difluoro PGI₂ representado por la siguiente fórmula (1), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un medicamento que contiene el mismo como principio activo.



en la que R^1 y R^2 son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de cadena lineal que tiene un número de carbonos de 1 a 3, y R^3 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4, un grupo alcoxialquilo, un grupo arilo, un átomo de halógeno o un grupo haloalquilo.

Efecto de la invención

- 5 El nuevo derivado de 7,7-difluoro PGI₂ proporcionado por la presente invención puede proporcionar un medicamento que mantiene la concentración en sangre durante un largo tiempo y presenta una acción farmacológica por administración parenteral o administración por vía oral, y que es para la profilaxis o tratamiento de inflamación del tubo digestivo o la aparición de diarrea o heces con sangre en enfermedad inflamatoria del intestino, o para la profilaxis o tratamiento de gastritis o úlcera en úlcera gástrica, úlcera del intestino delgado y similares.

Breve descripción de los dibujos

La [Fig. 1] muestra el efecto sobre heces anormales en el modelo de colitis por DSS en ratón.

La [Fig. 2] muestra el efecto sobre el acortamiento del colon en modelo de colitis por DSS en ratón.

La [Fig. 3] muestra el efecto sobre heces anormales en el modelo de colitis por DSS en rata.

La [Fig. 4] muestra el efecto sobre el acortamiento del colon en el modelo de colitis por DSS en rata.

- 15 La [Fig. 5] muestra el efecto sobre la lesión de tejido colónico en el modelo de colitis por DSS en rata.

La [Fig. 6] muestra el efecto sobre heces anormales en el modelo de remisión/recaída de colitis por DSS en ratón.

La [Fig. 7] muestra el efecto sobre la puntuación de consistencia de las heces en el modelo de colitis por transferencia de linfocitos T en ratón.

- 20 La [Fig. 8] muestra el efecto sobre la puntuación de sangre oculta fecal en el modelo de colitis por transferencia de linfocitos T en ratón.

La [Fig. 9] muestra el efecto sobre la puntuación de la disminución del peso corporal en el modelo de colitis por transferencia de linfocitos T en ratón.

La [Fig. 10] muestra el efecto sobre la puntuación de DAI en el modelo de colitis por transferencia de linfocitos T en ratón.

- 25 La [Fig. 11] muestra el efecto sobre la úlcera gástrica en el modelo de lesión de la mucosa gástrica inducida por etanol en rata.

La [Fig. 12] muestra el efecto sobre la úlcera del intestino delgado en el modelo de lesión del intestino delgado inducida por indometacina en rata.

[Realización de la invención]

- 30 (Definición del compuesto de la presente invención)

En la nomenclatura de los compuestos en la presente memoria descriptiva, los números usados para mostrar la posición en el esqueleto de PG se corresponden con los números en el esqueleto de ácido prostanoico. En la presente memoria descriptiva, un grupo en el que un átomo de hidrógeno de un grupo alquilo está sustituido también se indica como un grupo alquilo sustituido. Lo mismos se aplica a otros grupos.

- 35 Además, un grupo orgánico “inferior” tal como grupo alquilo y similares significa que el número de carbonos del mismo no es superior a 6. El número de carbonos del grupo orgánico “inferior” es preferentemente no superior a 4.

El “grupo alquilo” puede ser una cadena lineal o una cadena ramificada. A menos que se especifique de otro modo, el grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo inferior que tiene un número de carbonos de 1 a 6, y es particularmente preferible un grupo alquilo inferior que tiene un número de carbonos de 1 a 4. Ejemplos del grupo alquilo incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo propilo, un grupo isopropilo, un grupo butilo, un grupo isobutilo, un grupo sec-butilo, un grupo terc-butilo, un grupo pentilo, un grupo hexilo y similares.

- 40 El “grupo alcoxi” es preferentemente un grupo alcoxi inferior que tiene un número de carbonos de 1 a 6, particularmente preferentemente un grupo alcoxi que tiene un número de carbonos de 1 a 4. El grupo alcoxi puede ser una cadena lineal o una cadena ramificada. Ejemplos del grupo alcoxi incluyen un grupo metoxi, un grupo etoxi, un grupo propoxi, un grupo butoxi y similares.

45 El “grupo alcoxialquilo” es un grupo alquilo sustituido con un grupo alcoxi. El grupo alcoxi del grupo alcoxialquilo es preferentemente un grupo alcoxi inferior que tiene un número de carbonos de 1 a 4, y el grupo alquilo del grupo alcoxialquilo es preferentemente un grupo alquilo inferior que tiene un número de carbonos de 1 a 4. El grupo

alcoxialquilo es preferentemente un grupo alcoxialquilo inferior (es decir, el número de carbonos del grupo alcoxialquilo entero no es superior a 6), más preferentemente un grupo alcoxialquilo inferior que tiene un número de carbonos no superior a 4. Ejemplos del grupo alcoxialquilo incluyen un grupo metoximetilo, un grupo etoximetilo, un grupo propoximetilo, un grupo etoxietilo y similares.

- 5 El "grupo arilo" es un grupo de hidrocarburo aromático monovalente que tiene opcionalmente sustituyente(s). Como grupo arilo sin sustituyente es preferible un grupo fenilo.

- 10 Como "grupo arilo sustituido" (un grupo arilo que tiene sustituyente(s)) es preferible un grupo arilo en el que uno o más átomos de hidrógeno en el grupo arilo están sustituidos con un grupo alquilo inferior, un átomo de halógeno, un grupo (alquilo inferior) halogenado, un grupo alcoxi inferior y similares. Ejemplos preferibles del grupo arilo sustituido incluyen un grupo fenilo sustituido, y ejemplos particulares del mismo incluyen un grupo monohalofenilo (por ejemplo, grupo clorofenilo, grupo fluorofenilo, grupo bromofenilo, etc.), un grupo fenilo sustituido (con alquilo inferior halogenado) (por ejemplo, grupo trifluorometilfenilo, etc.) y un grupo (alcoxi inferior)fenilo (por ejemplo, grupo metoxifenilo, grupo etoxifenilo, etc.).

El "átomo de halógeno" es un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo.

- 15 El "grupo haloalquilo" es un grupo alquilo en el que uno o más átomos de hidrógeno en el grupo alquilo están sustituidos con un átomo de halógeno, y se prefiere un grupo haloalquilo inferior que tiene un número de carbonos de 1 a 6. Ejemplos del grupo haloalquilo incluyen un grupo fluorometilo, un grupo difluorometilo, un grupo trifluorometilo, un grupo trifluoroetilo, un grupo pentafluoroetilo, un grupo clorometilo, un grupo bromometilo y similares.

- 20 Como derivado de 7,7-difluoro PGI_2 representado por la fórmula (1) de la presente invención (también denominado en lo sucesivo derivado de PGI_2 (1) de la presente invención), es preferible el siguiente compuesto desde los aspectos de actividad farmacológica y propiedad física.

- 25 Es decir, R^1 y R^2 son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de cadena lineal que tiene un número de carbonos de 1 a 3, y cada uno independientemente es preferentemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo. Particularmente preferentemente, uno de R^1 y R^2 es un átomo de hidrógeno y el otro es un grupo metilo.

- 30 R^3 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4, un grupo alcoxialquilo, un grupo arilo, un átomo de halógeno o un grupo haloalquilo, y es preferible un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4, un grupo alcoxialquilo inferior tal como un grupo metoximetilo y similares, un átomo de halógeno tal como un átomo de cloro, un átomo de flúor y similares, o un grupo haloalquilo inferior tal como un grupo fluoroalquilo inferior y similares. Particularmente, es preferible un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4, un átomo de cloro o un grupo haloalquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4. Como grupo alquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4 son preferibles un grupo metilo y un grupo etilo, y como grupo haloalquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4 es preferible un grupo trifluorometilo.

Como R^3 es más preferible un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o un grupo trifluorometilo.

Además, R^3 puede estar sustituido en cualquiera de las posiciones orto (o), meta (m) y para (p) con respecto a la posición de sustitución de la cadena principal del esqueleto de prostaglandina con un anillo de benceno. R^3 está particularmente preferentemente sustituido en la posición meta (m).

- 40 (Realización de compuesto preferible de la presente invención)

Además, combinaciones preferibles de R^1 , R^2 y R^3 en el compuesto de la presente invención son las siguientes.

R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un átomo de hidrógeno.

R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un grupo metilo.

R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un átomo de cloro.

- 45 R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un grupo trifluorometilo.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un átomo de hidrógeno.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un grupo metilo.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un átomo de cloro.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un grupo trifluorometilo.

- 50 R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un átomo de hidrógeno.

R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un grupo metilo.

R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un átomo de cloro.

R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un grupo trifluorometilo.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un átomo de hidrógeno.

5 R^1 es un grupo metilo, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un grupo metilo.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un átomo de cloro.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un grupo trifluorometilo.

Además, combinaciones preferibles de entre aquellas mencionadas anteriormente son las siguientes.

R^1 es un grupo metilo, R^2 es un átomo de hidrógeno y R^3 es un grupo metilo.

10 R^1 es un átomo de hidrógeno, R^2 es un grupo metilo y R^3 es un grupo metilo.

(Procedimiento de producción de derivado de PGI_2 de la presente invención)

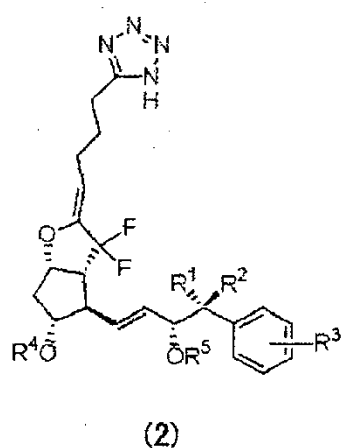
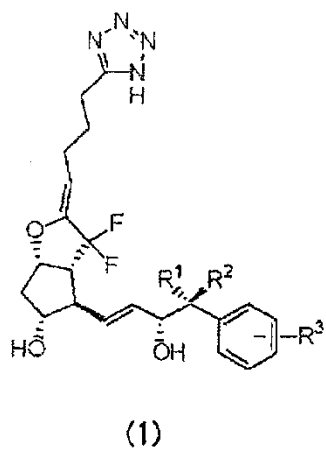
El derivado de PGI_2 (1) de la presente invención puede producirse, por ejemplo, basándose en los procedimientos descritos en los documentos JP-A-07-324081 y JP-A-08-217772 que se refieren a las invenciones hechas por los presentes inventores. Por ejemplo, usando lactona de Corey como material de partida, la cadena ω se introduce al principio, y la lactona se convierte por fluoración en la lactona de Corey que contiene la cadena ω . Entonces, una unidad de la cadena α se introduce por una reacción de adición con un reactivo organometálico que tiene un grupo tetrazol en el extremo y una reacción de deshidratación, o reacción de Wittig usando una sal de fosfonio que tiene un grupo tetrazol en el extremo, y similares, y el grupo hidroxilo se desprotege según sea necesario, por lo que puede sintetizarse el derivado de PGI_2 (1).

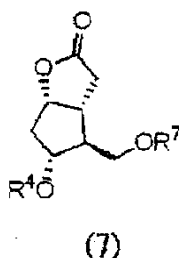
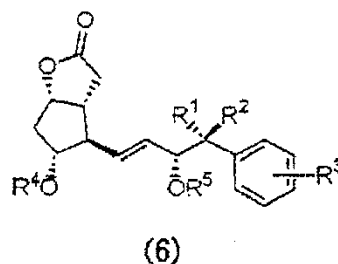
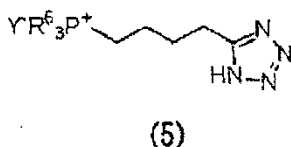
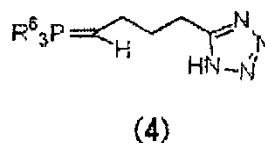
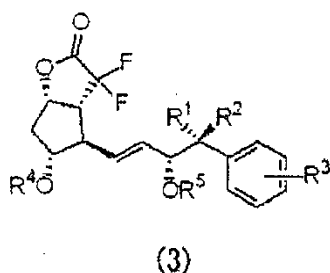
20 Alternativamente, se obtiene difluorolactona de Corey por fluoración de la lactona de Corey como material de partida. Entonces, se introduce una unidad de la cadena α por una reacción de adición con un reactivo organometálico que tiene un grupo tetrazol en el extremo y una reacción de deshidratación, o reacción de Wittig usando una sal de fosfonio que tiene un grupo tetrazol en el extremo, y similares, se introduce la cadena ω y el grupo hidroxilo se desprotege según sea necesario, por lo que puede sintetizarse el derivado de PGI_2 (1).

25 Alternativamente, el derivado de PGI_2 (1) también puede sintetizarse convirtiendo un grupo carboxi del derivado de ácido carboxílico descrito en el documento JP-A-07-324081 en un grupo ciano y convirtiendo el derivado en un derivado de tetrazol.

De estos procedimientos de producción, procedimientos representativos se explican específicamente usando las siguientes fórmulas químicas.

30





Por ejemplo, usando lactona de Corey (7) como material de partida, se introduce la cadena ω al principio, el derivado de lactona de Corey (6) obtenido que contiene la cadena ω se somete a una reacción de fluoración para dar el derivado de difluorolactona de Corey que contiene la cadena ω (3) que tiene dos átomos de flúor en la posición α del grupo carbonilo. Entonces, el derivado de difluorolactona (3) se hace reaccionar con derivado de fosforano (4) para introducir una unidad de la cadena ω , por lo que puede obtenerse el derivado de PGI_2 (2) con grupos hidroxilo protegidos. El grupo protector de hidroxilo se elimina dando el derivado de PGI_2 (1) de la presente invención.

El derivado de fosforano (4) puede obtenerse a partir de un derivado de sal de fosfonio (5).

Excepto cuando $\text{R}^1 - \text{R}^3$ sean sustituyentes particulares, el derivado de lactona (6) anteriormente mencionado es un compuesto conocido. El derivado de lactona (6) nuevo anteriormente mencionado en el que $\text{R}^1 - \text{R}^3$ son sustituyentes particulares puede producirse mediante un procedimiento similar al de los derivados de lactona (6) conocidos. Por ejemplo, pueden producirse derivados de lactona (6) nuevos haciendo reaccionar diéster de ácido 3-aryl-2-oxoalquilfosfónico con lactona de Corey que tiene un grupo formilo. Aquí, la cadena de alquilo del ácido alquilfosfónico tiene un número de carbonos de no menos de 3.

R^4 , R^5 y R^7 son cada uno independientemente un grupo protector de hidroxilo. R^4 , R^5 y R^7 puede ser grupos protectores iguales. Al igual que el grupo protector, puede usarse el grupo protector de hidroxilo descrito en "Shin Jikken Kagaku Koza (New Courses in Experimental Chemistry) 14, synthesis and reaction of organic compound (V)" (Maruzen Company, Limited), "Protective Groups in Organic Synthesis" (por T.W. Greene, J. Wiley & Sons) y similares. Específicamente, puede mencionarse un grupo triorganosililo, un grupo alcoxilalquilo, un grupo monovalente que tiene una estructura de éter cíclico y similares. Como grupo triorganosililo es preferible un grupo sililo en el que 3 grupos seleccionados de un grupo alquilo, un grupo arilo, un grupo aralquilo y grupo alcoxi están unidos a un átomo de silicio, y es particularmente preferible un grupo en el que 3 grupos alquilo inferior o grupos arilo están unidos a un átomo de silicio. Como ejemplos específicos del grupo protector se prefieren un grupo tetrahidropiranilo, un grupo terc-butildimetilsililo, un grupo terc-butildifenilsililo, un grupo trietilsililo, un grupo trifenilsililo o un grupo triisopropilsililo y similares. Particularmente, se prefieren un grupo tetrahidropiranilo, un grupo terc-butildimetilsililo, un grupo terc-butildifenilsililo y similares.

El grupo protector de hidroxilo puede eliminarse fácilmente. El procedimiento de desprotección del grupo hidroxilo protegido puede ser un procedimiento convencional. Por ejemplo, pueden emplearse los procedimientos descritos en "Shin Jikken Kagaku Koza (New Courses in Experimental Chemistry) 14 synthesis and reaction of organic compound (I), (II) y (V)" (Maruzen Company, Limited), "Protective Groups in Organic Synthesis" (por T.W. Greene, J. Wiley & Sons) y similares.

Para la conversión del derivado de lactona (6) en derivado de difluorolactona (3) por una reacción de fluoración, pueden aplicarse diversos procedimientos de fluoración conocidos. Por ejemplo, puede emplearse un procedimiento que incluye hacer reaccionar con diversos agentes de fluoración electrófilos en un disolvente inerte. La fluoración también puede realizarse mediante los procedimientos descritos en los documentos JP-A-07-324081 y JP-A-09-110729 referentes a la invención por los presentes inventores.

En la reacción de fluoración del derivado de lactona (6), preferentemente se usa un agente de fluoración electrófilo. Como agente de fluoración electrófilo puede usarse agente de fluoración electrófilo conocido o muy conocido. Por ejemplo, pueden mencionarse los agentes de fluoración electrófilos descritos en "Chemistry of fluorine" (Kodansha Scientific Ltd.) por Tomoya Kitazume, Takashi Ishihara y Takeo Taguchi y similares. Específicamente, pueden mencionarse N-fluorosulfonilamidas, derivado de N-sulfonilimida, hipofluorito de acetilo, gas flúor y similares.

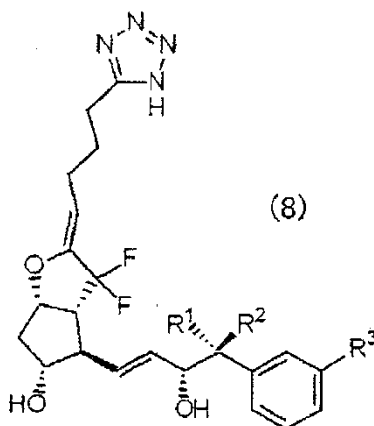
El agente de fluoración electrófilo se usa preferentemente en presencia de un disolvente inerte. Como disolvente inerte pueden mencionarse disolventes de éter, disolventes de hidrocarburo, disolventes polares, disolventes mixtos de los mismos y similares.

El derivado de difluorolactona (3) obtenido por la reacción de fluoración se hace reaccionar entonces con el derivado de fosforano (4) para dar derivado de PGL_2 (2) en el que el grupo hidroxilo está protegido. El derivado de fosforano (4) se produce a partir del derivado de sal de fosfonio correspondiente (5), en un disolvente inerte en presencia de una base, y el derivado de fosforano (4) formado se usa preferentemente directamente para la reacción de Wittig con derivado de difluorolactona (3) sin aislamiento. Como procedimientos de producción del derivado de fosforano (4) y derivado de la sal de fosfonio (5) pueden emplearse los procedimientos descritos en los documentos DE2242239, DE2405255 y similares. Como R^6 para el derivado de fosforano (4) o derivado de la sal de fosfonio (5) es preferible un grupo arilo tal como un grupo fenilo, un grupo toilo y similares, y es particularmente preferible un grupo fenilo. Como disolvente inerte pueden mencionarse disolventes de éter, disolventes de hidrocarburo, disolventes polares, disolventes acuosos, disolventes alcohólicos, disolventes mixtos de los mismos y similares.

El grupo protector de hidroxilo se elimina del derivado de PGL_2 (2) con grupos hidroxilo protegidos obtenidos mediante el procedimiento anterior para dar el derivado de PGL_2 (1).

Como el derivado de PGL_2 (1) de la presente invención tiene un carbono asimétrico en la estructura, están presentes diversos estereoisómeros e isómeros ópticos. La presente invención engloba todos aquellos estereoisómeros, isómeros ópticos, y mezclas de los mismos.

Ejemplos específicos del derivado de PGL_2 (1) de la presente invención incluyen el compuesto representado por la siguiente fórmula (8).



(Ejemplos del derivado de PGL_2 (1) de la presente invención)

Puede mencionarse un compuesto en el que, en la fórmula (8), R^1 , R^2 y R^3 tienen las estructuras mostradas en la siguiente Tabla 1.

[Tabla 1]

	R ¹	R ²	R ³
Compuesto A	H	H	H
Compuesto B	H	H	Me
Compuesto C	H	H	Cl
Compuesto D	H	H	CF ₃
Compuesto E	Me	H	H
Compuesto F	Me	H	Me
Compuesto G	Me	H	Cl
Compuesto H	Me	H	CF ₃
Compuesto I	H	Me	H
Compuesto J	H	Me	Me
Compuesto K	H	Me	Cl
Compuesto L	H	Me	CF ₃
Compuesto M	Me	Me	H
Compuesto N	Me	Me	Me
Compuesto O	Me	Me	Cl
Compuesto P	Me	Me	CF ₃

(Características del derivado de PGI₂ (1) de la presente invención)

- 5 El derivado de PGI₂ (1) de la presente invención es el derivado que no es fácilmente metabolizado en el cuerpo y tiene estabilidad mejorada. Como el grupo carboxi del esqueleto de PG se convierte en un grupo tetrazol, no se metaboliza fácilmente por β -oxidación, que se conoce como una ruta metabólica común de ácido graso tal como prostaglandinas. Por tanto, tiene una semivida en plasma prolongada y puede mantener una concentración en plasma eficaz durante un largo tiempo, en comparación con un compuesto que tiene un grupo carboxi del esqueleto de PG. Como la estabilidad metabólica mejora de esta forma, puede mejorarse la biodisponibilidad de fármacos.
- 10 (Medicamento que contiene derivado de PGI₂ (1) de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo)
- El medicamento de la presente invención contiene derivado de PGI₂ (1) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del derivado de PGI₂ (1), y además, un vehículo farmacéuticamente aceptable y, en algunos casos, otros componentes de tratamiento.
- 15 El medicamento de la presente invención contiene derivado de PGI₂ (1) y/o una sal farmacéuticamente aceptable del derivado de PGI₂ (1), o un hidrato del mismo, y además, un vehículo farmacéuticamente aceptable y, en algunos casos, otros componentes de tratamiento.
- 20 Cuando el agente profiláctico o terapéutico de la presente invención se administra a pacientes, la dosis diaria varía dependiendo de la edad y peso corporal de los pacientes, patología y gravedad y similares. Generalmente, se administran deseablemente 0,0001 - 10 mg, preferentemente 0,01 - 1 mg, del agente en una a varias porciones. Por ejemplo, para administración por vía oral, son preferibles 0,001 - 3 mg, y son particularmente preferibles 0,01 - 0,5 mg. Para administración intravenosa, son preferibles 0,0001 - 1 mg, y son particularmente preferibles 0,001 - 0,1 mg. La dosis puede cambiarse según convenga dependiendo de la enfermedad y su afección. Como pauta de dosificación, puede administrarse deseablemente un producto para inyección del agente por infusión continua por
- 25 goteo.
- Para su uso como un medicamento, el agente puede administrarse al cuerpo por administración por vía oral y administración parenteral (por ejemplo, administración intravascular (intravenosa, intrarterial), administración subcutánea, administración rectal, etc.). Ejemplos de la forma de dosificación incluyen forma de dosificación oral tal como comprimido, cápsula y jarabe, forma de dosificación parenteral tal como inyección de líquido (disolución, emulsión, suspensión y similares), infusión, supositorios, preparaciones nasales, parches e inhalaciones. La dosificación oral es particularmente deseable.
- 30 Una preparación en la forma de dosificación anteriormente mencionada puede producirse mezclando derivado de PGI₂ (1) de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con aditivos necesarios para la formulación tales como vehículos, excipientes, aglutinantes y estabilizadores convencionales, y formular la mezcla

en un procedimiento convencional. Por ejemplo, si la preparación es un polvo, gránulo, comprimido y similares, puede producirse usando cualquier vehículo farmacéutico preferible para producir una forma de dosificación sólida, por ejemplo, excipientes, lubricantes, disgregantes, aglutinantes y similares.

Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato cálcico, carbonato sódico, lactosa, fosfato de calcio y fosfato de sodio; agente de granulación y disgregante, tales como almidón de maíz y ácido algínico; aglutinante, tal como almidón, gelatina y goma arábiga, y lubricante, tal como estearato de magnesio, ácido esteárico y talco. El comprimido puede no recubrirse o recubrirse por una técnica conocida para retardar la disgregación y absorción en el estómago y el intestino, asegurando así una liberación sostenida durante un tiempo más largo. Por ejemplo, puede usarse un material de retardo del tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

El derivado de PGI₂ (1) de la presente invención puede proporcionarse como una cápsula de gelatina dura que contiene una mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato cálcico, fosfato de calcio o caolín. Alternativamente, puede proporcionarse como una cápsula de gelatina blanda que contiene una mezcla con un disolvente miscible con agua, tal como propilenglicol, polietilenglicol y etanol, o aceites, tales como aceite de cacahuete, parafina líquida y aceite de oliva.

Cuando la preparación es jarabe o líquido, pueden seleccionarse apropiadamente estabilizadores, agentes de suspensión, correctores, sustancias aromáticas y similares y usarse, por ejemplo, para la producción. Para la fabricación de la inyección, un principio activo se disuelve en agua destilada para inyección junto con un ajustador del pH tal como ácido clorhídrico, hidróxido sódico, lactosa, lactato de sodio, ácido acético, hidrogenofosfato de disodio y dihidrogenofosfato de sodio, y un agente isotónico tal como cloruro sódico y glucosa, y la inyección se prepara asépticamente. Puede usarse un diluyente no acuoso inactivo tal como propilenglicol, polietilenglicol, aceite de oliva, etanol y polisorbato 80 para la formulación de la preparación. Además, pueden añadirse manitol, dextrina, ciclodextrina, gelatina y similares, y la mezcla se liofiliza a vacío para dar una inyección que va a disolverse antes de uso. Para la estabilización y mejora de la administración del fármaco a una lesión, además, puede formularse una preparación de liposoma o una emulsión de lípido mediante un procedimiento conocido y usado como inyección.

Además, puede producirse una preparación de dosificación rectal usando una base de supositorio, tal como manteca de cacao, triglicérido de ácido graso, diglicérido de ácido graso, monoglicérido de ácido graso y polietilenglicol. Además, puede usarse una base soluble en agua, tal como polietilenglicol, polipropilenglicol, glicerol y glicerolgelatina, una base aceitosa, tal como vaselina filante, grasa dura, parafina, parafina líquida, Plastibase, lanolina y lanolina purificada, y similares para ajustar la preparación a la viscosidad adecuada y también puede producirse pomada para administración intra-rectal.

El derivado de PGI₂ (1) de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede administrarse tópicamente a la piel o membrana mucosa, es decir, administración transdérmica o transmucosa. Como formas de dosificación generales para este fin pueden mencionarse gel, hidrogel, loción, disolución, crema, pomada, esprays, agente de apósito, preparación de espuma, película, parche para la piel, oblea, implante, esponja, fibra, venda, microemulsión y similares. Como vehículos comúnmente usados pueden mencionarse alcohol, agua, aceite mineral, parafina líquida, vaselina filante, glicerol, polietilenglicol, propilenglicol y similares.

El derivado de PGI₂ (1) de la presente invención puede mezclarse con ciclodextrina o un derivado apropiado de la misma o un polímero soluble tal como polímero que contiene polietilenglicol para el fin de uso en cualquiera de las formas de dosificación anteriormente mencionadas, y mejorar la solubilidad, velocidad de disolución, biodisponibilidad y estabilidad. Por ejemplo, se ha confirmado que el complejo de fármaco-ciclodextrina y similares es generalmente útil para la mayoría de las formas de dosificación y vías de administración. Pueden usarse tanto complejos de inclusión como de no inclusión. Como otro procedimiento para la complejación directa con fármacos también pueden usarse ciclodextrina como aditivo auxiliar, es decir, vehículo, excipiente o solubilizante. Para estos fines se usan generalmente α -, β - y γ -ciclodextrinas y similares.

(Sal farmacéuticamente aceptable del derivado de PGI₂ de la presente invención)

Una sal farmacéuticamente aceptable del derivado de PGI₂ (1) de la presente invención es una sal del resto del grupo tetrazol del derivado con una sustancia básica, que es un compuesto en el que el átomo de hidrógeno del grupo tetrazol está sustituido por catión.

Ejemplos del catión incluyen cationes de metal alcalino tales como Na⁺ y K⁺, cationes de metales (distintos de cationes de metal alcalino) tales como 1/2 Ca²⁺, 1/2 Mg²⁺, 1/2 Zn²⁺ y 1/3 Al³⁺, NH₄⁺, cationes amonio de amina orgánica y aminoácido tales como trietanolamina, dietanolamina, etanolamina, trometamina, lisina y arginina, y similares. El catión preferible es el ión sodio o potasio.

Más particularmente, la sal aceptable es una sal producida a partir de una base no tóxica farmacéuticamente aceptable tal como base inorgánica y base orgánica. Como sal derivada de la base inorgánica no tóxica puede mencionarse sal de litio, sal de cobre, sal férrica, sal ferrosa, sal mangánica, sal de manganeso farmacéuticamente aceptables y similares, además de la sal de sodio, sal de potasio, sal de calcio, sal de magnesio, sal de cinc, sal de aluminio, sal de amonio anteriormente mencionadas y similares. De estas, se prefieren la sal de sodio, sal de

potasio, sal de calcio, sal de magnesio y sal de amonio, y la sal de sodio y la sal de potasio son particularmente preferibles. Una sal derivada de una base orgánica no tóxica farmacéuticamente aceptable incluye sales con amina primaria, secundaria y terciaria, amina sustituida que incluye amina sustituida que se produce naturalmente, amina cíclica y resinas de intercambio iónico básicas. Distintos de los ejemplos de la amina orgánica y aminoácido anteriormente mencionados pueden mencionarse isopropilamina, dietilamina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, etilendiamina, N,N'-dibenciletilendiamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, morfolina, N-etil-morfolina, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina, betaína, cafeína, colina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, metilglucamina, resinas de poliamina, procaína, purina, teobromo y similares.

(Uso del medicamento que contiene el derivado de PGI₂ de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo)

Un medicamento que contiene derivado de PGI₂ (1) de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo muestra excelentes efectos como fármaco para enfermedades del tubo digestivo.

La enfermedad del tubo digestivo en la presente invención incluye enfermedad inflamatoria y enfermedad ulcerosa del tubo digestivo, que es una enfermedad con inflamación o úlcera en los tejidos epiteliales, de mucosa o submucosa del tubo digestivo, o proliferación anormal o disfunción de epitelio de la mucosa, y que se produce por estímulos físicos, estímulos químicos tales como por jugo gástrico, estímulos por fármacos tal como fármacos antiinflamatorios no esteroideos y esteroides, enfermedades inmunitarias y enfermedades autoinmunitarias de etiología desconocida, enfermedades mentales y similares.

La enfermedad inflamatoria del tubo digestivo incluye enfermedad inflamatoria del intestino, particularmente colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, que es una enfermedad inflamatoria granulomatosa no específica acompañada por fibrilación o ulceración, enfermedad de Behcet intestinal y úlcera simple. La enfermedad ulcerosa del tubo digestivo de la presente invención incluye estomatitis, estomatitis aftosa, esofagitis, úlcera esofágica, gastritis, úlcera gástrica y úlcera del intestino delgado.

Además, la gastritis y la úlcera gástrica incluyen gastritis inducida por fármacos, úlcera gástrica, gastritis alcohólica y úlcera gástrica, y la gastritis inducida por fármacos y la úlcera gástrica incluyen gastritis y úlcera gástrica inducida por un fármaco antiinflamatorio no esteroideo.

La úlcera del intestino delgado incluye la úlcera del intestino delgado inducida por fármacos y la úlcera del intestino delgado alcohólica, y la úlcera del intestino delgado inducida por fármacos incluye la úlcera del intestino delgado inducida por un fármaco antiinflamatorio no esteroideo.

Particularmente, el medicamento de la presente invención es útil como agente profiláctico o terapéutico para colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, gastritis, úlcera gástrica o úlcera del intestino delgado.

La presente invención se explica en detalle a continuación con referencia a ejemplos específicos, que no deben interpretarse como limitantes.

[Ejemplo 1]

Síntesis de (2R)-2-(m-tolil)propionato de metilo

A ácido (2R)-2-(m-tolil)propiónico (12,45 g) se añadieron metanol (14,83 g) y ácido sulfúrico concentrado (6,46 g), y la mezcla se agitó a reflujo durante 6 h. Entonces, la mezcla se neutralizó con disolución acuosa al 10 % de carbonato sódico y se extrajo con hexano. Después de secar sobre sulfato de magnesio, el residuo se concentró a presión reducida dando el compuesto del título (12,79 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,49 (d, J=7,0 Hz, 3H), 2,33 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 3,69 (dd, J=14,4, 7,3 Hz, 1H), 7,06-7,22 (m, 4H).

[Ejemplo 2]

Síntesis de (3R)-2-oxo-3-(m-tolil)butilfosfonato de dimetilo

A metilfosfonato de dimetilo (1,97 g) se añadió tetrahidrofurano (THF) (25 ml) y la mezcla se enfrió a -78 °C. Se añadió n-butil-litio (disolución en hexano 1,5 M) (10 ml) y la mezcla se agitó durante 1 h. Entonces, una disolución de éster metílico {(2R)-2-(m-tolil)propionato de metilo} sintetizada en el Ejemplo 1 (1,34 g) en THF (3,8 ml) se añadió a -78 °C y la mezcla se agitó durante 2 h. La reacción se inactivó con 25 ml de hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 5:1 - 1:5) dando el compuesto del título (1,63 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,39 (d, J=6,7 Hz, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,84 (ddd, J=22,3, 14,1, 0,6 Hz, 1H), 3,18 (dd, J=22,3, 14,1 Hz, 1H), 3,76 (dd, J=19,3, 11,1 Hz, 6H), 4,00 (dd, J=13,8, 7,0 Hz, 1H), 7,01-7,24 (m, 4H).

[Ejemplo 3]

Síntesis de (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,4R)-3-oxo-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-benzoiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona

Se dispersó hidruro de sodio (55 %) (8,75 g) en 1,2-dimetoxietano (DME) (300 ml) y la mezcla se enfrió en hielo. Se añadió una disolución de fosfonato {(3R)-2-oxo-3-(m-tolil)butilfosfonato de dimetilo} (54,7 g) sintetizado en el Ejemplo 2 en DME (50 ml) y la mezcla se agitó durante 1 h.

A la disolución anteriormente mencionada se añadió una disolución de (1S,5R,6R,7R)-6-formil-7-benzoiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona (50,0 g) en DME (400 ml) y la mezcla se agitó durante 1 h. La reacción se inactivó con 350 ml de 10 % de salmuera, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio y el residuo se concentró a presión reducida. El producto en bruto concentrado se recrystalizó en t-butil metil éter dando el compuesto del título (64,7 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,39 (d, J=7,0 Hz, 3H), 2,20-2,28 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,34-2,41 (m, 1H), 2,49-2,57 (m, 1H), 2,76-2,85 (m, 3H), 3,80 (q, J=7,0 Hz, 1H), 5,03 (t, J=5,3 Hz, 1H), 5,23 (q, J=5,3 Hz, 1H), 6,19 (d, J=15,5 Hz, 1H), 6,69 (dd, J=15,6, 7,6 Hz, 1H), 6,94-7,19 (m, 4H), 7,42-7,95 (m, 5H).

[Ejemplo 4]

Síntesis de (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-hidroxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-benzoiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona

Una disolución de enona {(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,4R)-3-oxo-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-benzoiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona} (147,0 g) sintetizada en el Ejemplo 3 en THF (1480 ml) se enfrió a -40 °C, se añadió (-)-B-clorodiisopinocampfeilborano (disolución en hexano 1,7 M) (721 ml) y la mezcla se agitó bajo enfriamiento con hielo durante 20 h. Se añadió acetona (183 ml) y la mezcla se agitó durante 3 h. Se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso y la mezcla se extrajo con t-butil metil éter. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida dando el compuesto en bruto del título (649,9 g).

[Ejemplo 5]

Síntesis de (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-hidroxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-hidroxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona

El alcohol en bruto, {(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-hidroxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-benzoiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona} (649,9 g) sintetizado en el Ejemplo 4 se disolvió en metanol (740 ml), se añadió carbonato de potasio (116,3 g) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. Se añadió ácido acético para ajustar a pH 7, se evaporó metanol, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. El extracto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo=4/1 - 0/1) dando el compuesto del título (22,3 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,33 (d, J=7,0 Hz, 3H), 1,70 (s, 1H(OH)), 1,86 (ddd, J=11,3, 7,8, 3,2 Hz, 1H), 2,07 (d, J=4,4 Hz, 1H(OH)), 2,13-2,23 (m, 2H), 2,34 (s, 3H), 2,35-2,44 (m, 3H), 2,47 (d, J=3,8 Hz, 1H), 2,56 (dd, J=18,2, 9,7 Hz, 1H), 2,80 (q, J=7,0 Hz, 1H), 3,79-3,85 (m, 1H), 4,12-4,16 (m, 1H), 4,81 (dt, J=7,0, 3,2 Hz, 1H), 5,27 (ddd, J=15,7, 8,5, 0,6 Hz, 1H), 5,50 (dd, J=15,2, 6,8 Hz, 1H), 6,94-7,20 (m, 4H).

[Ejemplo 6]

Síntesis de (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona

A una disolución del diol, {(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-hidroxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-hidroxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona} (988 mg) sintetizado en el Ejemplo 5 en N,N-dimetilformamida (DMF) (10 ml) se añadieron a temperatura ambiente cloruro de t-butildimetilsililo (1,17 g) e imidazol (1,08 g) y la mezcla se agitó durante 2,5 h. La mezcla de reacción se vertió en hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con mezcla de hexano/acetato de etilo=2/1. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 20:1 - 10:1) dando el compuesto del título (1,56 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ -0,09 (d, J=6,4 Hz, 6H), 0,02 (d, J=2,4 Hz, 6H), 0,86 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 1,27 (d, J=7,0 Hz, 3H), 1,86-1,92 (m, 1H), 1,96-2,02 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,31-2,47 (m, 3H), 2,62-2,73 (m, 2H), 3,82 (q, J=4,7 Hz, 1H), 4,05 (t, J=6,4 Hz, 1H), 4,86 (dt, J=8,0, 2,4 Hz, 1H), 5,16 (dd, J=15,5, 7,4 Hz, 1H), 5,30 (dd, J=15,7, 6,3 Hz, 1H), 6,90-7,16 (m, 4H).

[Ejemplo 7]

Síntesis de (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluoro-bicyclo[3.3.0]octan-3-ona

Se añadió tetrahidrofurano (THF) (19 ml) a bromuro de manganeso (1,48 g) y N-fluorobencenosulfonimida (2,48 g), y

la mezcla se agitó durante 30 min y se agitó a -78 °C. Se añadió una disolución de la lactona {(1S, 5R, 6R, 7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona} (0,5 g) sintetizada en el Ejemplo 6 en THF (5 ml), se añadió una disolución (0,5 M, 13 ml) de bis(trimetilsilil)amida de potasio en tolueno y la mezcla se calentó hasta 0 °C durante 3,5 h. La mezcla de reacción se vertió en hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con mezcla de hexano/acetato de etilo=1/1. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 20:1) dando el compuesto del título (0,32 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ -0,08-0,03 (m, 12H), 0,82 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 1,28 (d, J=7,0 Hz, 3H), 1,70-1,77 (m, 1H), 1,96-2,04 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,60-2,91 (m, 3H), 3,82-3,87 (m, 1H), 3,99-4,23 (m, 1H), 5,00 (t, J=6,4 Hz, 1H), 5,06 (dd, J=15,7, 7,8 Hz, 1H), 5,33 (ddd, J=15,9, 6,7, 1,2 Hz, 1H), 6,88-7,16 (m, 4H). RMN ¹⁹F (CDCl₃): -113,1 (d, J=279,3 Hz), -91,0 (dd, J=279,3, 25,9 Hz).

[Ejemplo 8]

Síntesis de 4-[(Z)-(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluoro-bicyclo[3.3.0]octan-3-iliden]-1-(tetrazol-5-il)butano

A una suspensión de bromuro de 4-(tetrazol-5-il)butiltrifenilfosfonio (14,0 g) en tolueno (390 ml) se añadió una disolución (0,5 M, 120 ml) de bis(trimetilsilil)amida de potasio en tolueno, y la mezcla se agitó a 60 °C durante 1 h. Se añadió una disolución de la difluorolactona, {(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluorobicyclo[3.3.0]octan-3-ona} sintetizada en el Ejemplo 7 (4,32 g) en tolueno (130 ml) a -10 °C, y la mezcla se agitó durante 18 h mientras que la mezcla se calentaba a temperatura ambiente. Se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso para extinguir la reacción y la mezcla se extrajo con mezcla de hexano/acetato de etilo=1/1. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo=5/1 - 0/1) dando el compuesto del título (4,1 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ -0,14-0,01 (m, 12H), 0,82 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 1,23-1,27 (m, 3H), 1,82-2,09 (m, 5H), 2,21-2,28 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,45-2,53 (m, 1H), 2,64-2,73 (m, 2H), 2,93-2,97 (m, 2H), 3,90 (dd, J=11,7, 5,3 Hz, 1H), 4,08-4,09 (m, 1H), 4,84-4,87 (m, 2H), 5,27 (dd, J=15,5, 7,8 Hz, 1H), 5,44 (dd, J=15,6, 6,2 Hz, 1H), 6,92-7,16 (m, 4H).

RMN ¹⁹F (CDCl₃): -112,3 (d, J=253,4 Hz), -81,4 (dd, J=253,4, 18,7 Hz).

[Ejemplo 9]

Síntesis de 4-[(Z)-(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4R)-3-hidroxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-hidroxi-2-oxa-4,4-difluorobicyclo[3.3.0]octan-3-iliden]-1-(tetrazol-5-il)butano

Se añadieron THF (81 ml), agua (81 ml) y ácido acético (244 ml) al compuesto (4,1 g) sintetizado en el Ejemplo 8, y la mezcla se agitó a 35 °C durante 46 h. Se añadió agua (500 ml) y la mezcla se extrajo con cloroformo. El extracto se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo=1/5 - 0/1) y se recristalizó en éter dietílico dando el compuesto del título (1,1 g). La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CD₃OD): δ 1,30 (d, J=7,0 Hz, 3H), 1,69 (dddd, J=14,6, 7,6, 3,0, 2,6 Hz, 1H), 1,82-1,95 (m, 2H), 2,10-2,16 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,31-2,41 (m, 2H), 2,48-2,56 (m, 1H), 2,72 (q, J=7,0 Hz, 1H), 2,93 (t, J=7,6 Hz, 2H), 3,78 (q, J=7,6 Hz, 1H), 4,04-4,10 (m, 1H), 4,69 (dt, J=6,48, 2,96 Hz, 1H), 4,79 (dt, J=7,6, 5,0 Hz, 1H), 5,36-5,46 (m, 2H), 6,95-7,13 (m, 4H).

RMN ¹⁹F (CD₃OD): -116,6 (d, J=250,5 Hz), -84,8 (ddd, J=251,9, 17,3, 14,4 Hz).

[Ejemplo 10]

Síntesis de 2-oxo-3-(m-tolil)butilfosfonato de dimetilo

El compuesto del título se sintetizó usando racemato de ácido 2-(m-tolil)propiónico y del mismo modo que en el procedimiento de los Ejemplos 1 - 2. La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,39 (d, J=7,2 Hz, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,83 (dd, J=22,4, 14,4 Hz, 1H), 3,18 (dd, J=22,4, 14,0 Hz, 1H), 3,76 (dd, J=19,6, 11,2 Hz, 6H), 3,99 (dd, J=14,0, 6,8 Hz, 1H), 7,01-7,27 (m, 4H).

[Ejemplo 11]

Síntesis de (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona

El compuesto del título se sintetizó usando racemato de 2-oxo-3-(m-tolil)butilfosfonato de dimetilo y del mismo modo

que en el procedimiento de los Ejemplos 3 - 6. La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

RMN ^1H (CDCl_3): δ -0,20-0,10 (m, 12H), 0,80-0,90 (m, 18H), 1,18-1,28 (m, 3H), 1,85-2,20 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,30-2,80 (m, 5H), 3,80-4,15 (m, 2H), 4,81-4,95 (m, 1H), 5,12-5,42 (m, 2H), 6,88-7,20 (m, 4H).

[Ejemplo 12]

- 5 Síntesis de (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluoro-biciclo[3.3.0]octan-3-ona

El compuesto del título se sintetizó usando (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxabicyclo[3.3.0]octan-3-ona sintetizada en el Ejemplo 11 y del mismo modo que en el procedimiento del Ejemplo 7. La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

- 10 RMN ^1H (CDCl_3): δ -0,20-0,05 (m, 12H), 0,80-0,90 (m, 18H), 1,19-1,29 (m, 3H), 1,70-2,10 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,60-3,05 (m, 3H), 3,84-4,12 (m, 2H), 4,95-5,50 (m, 3H), 6,85-7,20 (m, 4H). RMN ^{19}F (CDCl_3): -113,6 - -112,8(m), -91,7 - -90,6(m).

[Ejemplo 13]

- 15 Síntesis de 4-[(Z)-(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluoro-biciclo[3.3.0]octan-3-iliden]-1-(tetrazol-5-il)butano

El compuesto del título se sintetizó usando (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluoro-biciclo[3.3.0]octan-3-ona sintetizada en el Ejemplo 12 y del mismo modo que en el procedimiento del Ejemplo 8. La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

- 20 RMN ^1H (CDCl_3): δ -0,15-0,05 (m, 12H), 0,80-0,89 (m, 18H), 1,20-1,28 (m, 3H), 1,80-3,05 (m, 14H), 3,90-4,15 (m, 2H), 4,85-4,95 (m, 2H), 5,23-5,58 (m, 2H), 6,90-7,20 (m, 4H).

RMN ^{19}F (CDCl_3): -113,0 - -111,3(m), -82,0 - -80,7(m).

[Ejemplo 14]

Síntesis de 4-[(Z)-(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-hidroxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-hidroxi-2-oxa-4,4-difluorobiciclo[3.3.0]octan-3-iliden]-1-(tetrazol-5-il)butano

- 25 El compuesto del título se sintetizó usando 4-[(Z)-(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluoro-biciclo[3.3.0]octan-3-iliden]-1-(tetrazol-5-il)butano sintetizado en el Ejemplo 13 y del mismo modo que en el procedimiento del Ejemplo 9. La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

- 30 RMN ^1H (CDCl_3): δ 1,15-1,35 (m, 3H), 1,80-3,00 (m, 11H), 2,29 (s, 3H), 4,05-4,20 (m, 2H), 4,75-4,85 (m, 2H), 5,35-5,70 (m, 2H), 6,95-7,25 (m, 4H).

RMN ^{19}F (CDCl_3): -114,5 - -112,7(m), -83,5 - -81,8(m).

[Ejemplo 15]

Síntesis de ácido 5-[(Z)-(1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-hidroxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-hidroxi-2-oxa-4,4-difluorobiciclo[3.3.0]octan-3-iliden]pentanoico (forma de carboxilato)

- 35 El compuesto del título se sintetizó usando (1S,5R,6R,7R)-6-[(1E,3R,4RS)-3-t-butildimetilsiloxi-4-(m-tolil)-1-pentenil]-7-t-butildimetilsiloxi-2-oxa-4,4-difluoro-biciclo[3.3.0]octan-3-ona sintetizada en el Ejemplo 12 y bromuro de (4-carboxibutil)trifenilfosfonio y del mismo modo que en el procedimiento de los Ejemplos 8 - 9. La propiedad estructural fue como se describe a continuación.

- 40 RMN ^1H (CD_3OD): δ 1,17-1,30 (m, 3H), 1,63-2,79 (m, 11H), 2,29 (s, 3H), 3,75-4,12 (m, 2H), 4,66-4,85 (m, 2H), 5,40-5,58 (m, 2H), 6,95-7,15 (m, 4H).

RMN ^{19}F (CD_3OD): -118,3 - -117,7 (d, $J=250,4\text{Hz}$), -86,1 - -85,3(m).

[Ejemplo 16]

Estabilidad metabólica *in vitro* del compuesto de la presente invención

- 45 Se probaron una mezcla del compuesto F y el compuesto J de la presente invención descritos en la Tabla 1 (F:J = 52:41, sintetizado en el Ejemplo 14) y una mezcla de compuestos en la que los grupos tetrazol en C-1 del compuesto F y el compuesto J están respectivamente sustituidos con ácido carboxílico (denominada forma de carboxilato, F:J = 54:34, sintetizado en el Ejemplo 15).

Primero, se preparó una fracción de mitocondrias a partir de hígado de rata según la siguiente Referencia A. Entonces, en referencia al procedimiento de YAMAGUCHI y col. descrito en las siguientes Referencias B y C, se estudió una reacción de β -oxidación independiente de NADPH. La reacción se llevó a cabo a 37 °C durante 30 min, y se detuvo con una disolución de metanol que contenía una sustancia patrón interna adecuada. Cada compuesto se cuantificó por el procedimiento convencional interno usando un aparato de cromatografía líquida de alta resolución-espectrometría de masas (CL-EM/EM). La relación de compuesto residual después de la reacción metabólica de los compuestos F, J y cada forma de carboxilato de los mismos en la fracción de mitocondrias de rata se muestra en la siguiente Tabla 2 en promedio $\pm$ desviación estándar de 3 experimentos.

[Tabla 2]

10 Relación residual de compuesto sin cambiar después de la reacción de β -oxidación

Compuesto	Relación residual (%)
Compuesto F	91,6 $\pm$ 6,8
Compuesto J	90,1 $\pm$ 6,9
Forma de carboxilato del compuesto F	27,8 $\pm$ 2,2
Forma de carboxilato del compuesto J	44,1 $\pm$ 2,1

Como es evidente de la Tabla 2 anteriormente mencionada, el compuesto F y el compuesto J representativos de la presente invención no se someten a β -oxidación en una fracción de mitocondrias.

Referencias

- 15 A) The Japanese Biochemical Society, ed., Biochemical Experiment Course 12 energy metabolism and biological oxidation (vol. 1), Tokyo Kagaku Dojin, p. 217-218, 1ª ed. 2ª impresión, publicado el 11 de Julio de 1979.
- B) Drug Metabolism And Disposition 23(11): 1195-1201 (1995).
- C) Xenobiotica 26(6): 613-626 (1996).

20 [Ejemplo 17]

Farmacocinética en plasma después de la administración intravenosa a ratas

Para verificar la estabilidad metabólica *in vivo* del compuesto de la presente invención, se evaluó la farmacocinética en plasma después de la administración intravenosa a ratas. Se aclimataron ratas macho (6 semanas de edad, peso corporal 160 - 180 g) durante 1 semana y se usaron los animales diagnosticados sanos. Se disolvieron una mezcla de compuesto F y compuesto J de la presente invención descrita en la Tabla 1 (F:J = 52:41) y una mezcla de formas de carboxilato de compuesto F y compuesto J (F:J = 54:34) y compuesto F (sintetizado en el Ejemplo 9) en una pequeña cantidad de etanol y se añadió solución salina fisiológica para preparar las disoluciones de compuesto de prueba. Las disoluciones de compuesto de prueba se administraron instantáneamente intravenosamente a 1 ml/kg en la vena femoral de ratas no en ayunas bajo una ligera anestesia con éter. Se extrajo sangre venosa de la vena de la cola 5, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 min después de la administración. La sangre se mezcló con heparina y se centrifugó (3000 rpm, 4 °C, 15 min) para obtener plasma. La concentración del compuesto en plasma se determinó por el procedimiento convencional interno usando CL-EM/EM. El intervalo de determinación por este procedimiento fue de 0,1 a 100 ng/ml. Las concentraciones de compuesto obtenidas de cada rata se analizaron en una forma independiente del modelo usando un software de análisis farmacocinético WinNonlin (ver. 3.3) y se obtuvo el promedio $\pm$ desviación estándar de 3 animales para cada grupo. La semivida aparente ($t_{1/2}$) en la fase de eliminación se muestra en la siguiente tabla 3.

[Tabla 3]

Semivida aparente de la fase de eliminación de compuestos después de la administración intravenosa a ratas

Compuesto de prueba	Dosis	$t_{1/2}$ (min)
compuesto F administrado como una mezcla con isómeros	50 µg/kg (mezcla con isómeros)	115 ± 31
compuesto J administrado como una mezcla con isómeros	50 µg/kg (mezcla con isómeros)	77 ± 19
compuesto F	300 µg/kg	158 ± 15
forma de carboxilato del compuesto F administrado como una mezcla con isómeros	50 µg/kg (mezcla con isómeros)	9,6 ± 1,7
forma de carboxilato del compuesto J administrado como una mezcla con isómeros	50 µg/kg (mezcla con isómeros)	8,9 ± 0,3

- 5 Como es evidente de la Tabla 3 anteriormente mencionada, los valores de $t_{1/2}$ del compuesto F y el compuesto J de la presente invención fueron aproximadamente 1 - 2 h, que fueron notablemente prolongadas en comparación con menos de 10 min de las formas de carboxilato. Sugiere que el compuesto F y el compuesto J de la presente invención tienen excelente estabilidad metabólica.

[Ejemplo 18]

Efecto profiláctico sobre el modelo de colitis inducida por sulfato sódico de dextrano en ratones

- 10 El efecto profiláctico del compuesto F sobre la colitis ulcerosa se examinó en el modelo de colitis inducida por sulfato sódico de dextrano. El modelo animal muestra la inflamación localizada en el intestino grueso, que produce diarrea y heces con sangre, que se parece mucho a la afección patológica de la colitis ulcerosa clínica (véanse las Referencias D y E).

- 15 Se compraron ratones BALB/c hembra (6 semanas de edad, Japan SLC), se aclimataron durante 1 semana y se usaron para el estudio. Excepto el grupo normal, se dejó que los ratones bebieran libremente una disolución de sulfato sódico de dextrano (que va a abreviarse como DSS, MP Biochemicals, M.W. 36.000 – 50.000, lote n° 3439J) preparada al 2,2 % en peso/volumen durante 9 días para inducir colitis. El compuesto F se administró por vía oral administrado a la dosis de 0,1, 0,3 y 1 mg/kg, una vez al día, diariamente, desde el día de inicio de la bebida de DSS (día 0) hasta un día antes de la autopsia (día 9). El grupo de control se administró por vía oral con un disolvente (1 % en vol de disolución de etanol) a 10 ml/kg del mismo modo.

- 25 El estudio preliminar de los presentes inventores había revelado que las heces de ratón mostraban una correlación entre el contenido de agua y la forma de las mismas. Así, para determinar el nivel de diarrea, las heces se clasificaron en 6 niveles; normales (puntuación 0), heces esféricas que no son inferiores al 50 % (puntuación 1), heces con forma de banana que son inferiores al 50 % (puntuación 2), heces con forma de banana que no son inferiores al 50 % (puntuación 3), heces lodosas (puntuación 4), heces acuosas (puntuación 5) (puntuación de consistencia de las heces). La sangre oculta fecal se clasificó usando el portaobjetos 5 de sangre oculta fecal de Shionogi II (Shionogi & Co., Ltd.) en 5 niveles; negativo (sin cambio de color del portaobjetos de amarillo, puntuación 0), débilmente positiva (verde ligeramente azulado, puntuación 1), positiva (verde azulado, puntuación 2), moderadamente positiva (verde azulado evidente, puntuación 3) y fuertemente positiva (cambio de color instantáneo a azul oscuro con revelador de color, puntuación 4). La suma de la puntuación de consistencia de las heces y la puntuación de sangre oculta se definió como la puntuación de heces. Se usaron ocho a 10 animales para cada grupo, y los resultados se expresaron como el promedio ± desviación estándar.

- 35 Como resultado, el peso corporal aumentó gradualmente durante el periodo de estudio sin ninguna diferencia entre grupos. El grupo de control mostró heces sueltas obvias y sangre oculta en heces a partir del día 4 bebiendo DSS. En el día de la autopsia (día 9), la longitud del intestino grueso de las mismas fue claramente más corta que la del grupo normal. El aumento en la puntuación de heces se suprimió en función del compuesto F, que fue una tendencia supresora a 0,1 mg/kg y significativa a 0,3 y 1 mg/kg (Fig. 1). Asimismo, el compuesto F mostró un efecto supresor dependiente de la dosis sobre el acortamiento del intestino grueso (Fig. 2). Así, el compuesto F previno claramente la aparición de colitis ulcerosa.

40 Referencias

D) Lab. Invest. 69(2): 238-249 (1993).

E) Inflamm. Res. 45(4): 181-191 (1996).

[Ejemplo 19]

Efecto profiláctico sobre la colitis inducida por sulfato sódico de dextrano en ratas

También se estudió el efecto profiláctico del compuesto F sobre la colitis en ratas. Se compraron ratas SD macho, 7 semanas de edad, peso corporal aproximadamente 210 g - 240 g (Charles River), se aclimataron durante 1 semana y se usaron para el estudio. Excepto el grupo normal, se dejó que las ratas bebieran libremente una disolución de DSS (MP Biochemicals, M.W. 36.000-50.000, lote n° 4556J) preparada al 5,5 % en peso/volumen durante 8 días para inducir colitis. El compuesto F a dosis de 0,3, 1 y 3 mg/kg se administró por vía oral una vez al día, diariamente, desde un día antes del día de inicio de la bebida de DSS a un día antes de la autopsia (día 7). El grupo de control se administró por vía oral con un disolvente un disolvente (1 % en vol de disolución de etanol) a 5 ml/kg.

En el día 8 desde el inicio de la bebida de DSS, se administró 1,25 % en peso/volumen de disolución de azul de Evans a 0,2 ml/100 g en la vena de la cola. Después de 30 min, las ratas se sometieron a laparotomía bajo anestesia con éter y se desangraron hasta la muerte. Después, el intestino grueso se diseccionó desde justo debajo del ciego hasta el ano, y se midió la longitud con un compás calibrador. Después de sacar el contenido del intestino grueso, el tejido colónico de 7 cm de longitud desde el ano se lavó 3 veces con solución salina fisiológica y se secó durante la noche con una bomba de vacío. Al día siguiente se midió el peso en seco, se añadió formamida (2 ml), el colorante se extrajo a 50 °C durante la noche y se midió el nivel del mismo a 620 nm. Se preparó una curva patrón usando una disolución patrón de azul de Evans y se calculó la cantidad (mg) de azul de Evans en 1 g de tejido colónico para estimar el grado de lesión del tejido colónico.

Para mostrar el nivel de diarrea, la forma de las heces se clasificó en 6 niveles, con normal (puntuación 0), heces similares a bacilos que son inferiores al 50 % (puntuación 1), heces similares a bacilos que no son inferiores al 50 % (puntuación 2), heces similares a bacilos y heces parcialmente lodosas (puntuación 3), heces lodosas (puntuación 4) y heces acuosas (puntuación 5) (puntuación de consistencia de las heces). La puntuación de sangre oculta fecal se evaluó por el mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 18. La suma de la puntuación de consistencia de las heces y la puntuación de sangre oculta se definió como la puntuación de heces. Se usaron de siete a 10 animales para cada grupo, y los resultados se muestran en promedio $\pm$ desviación estándar.

Como resultado, el peso corporal del grupo de control aumentó gradualmente coherentemente, pero el aumento fue significativamente más pequeño que el del grupo normal. La puntuación de heces de control se elevó significativamente desde el día 1 de beber DSS. El día de la autopsia (día 8), el intestino grueso de las mismas mostró una lesión de tejido aparente y un acortamiento significativo. A diferencia, la administración del compuesto F a 1 mg/kg y 3 mg/kg mostró una tendencia supresora significativa o efecto supresor significativo sobre estos acontecimientos (Fig. 3, 4, 5). Es decir, el compuesto F previene el desarrollo de úlceras en el intestino grueso y normaliza la función de los órganos, conduciendo así a la supresión de síntomas de diarrea y heces con sangre.

[Ejemplo 20]

Efecto terapéutico sobre el modelo de remisión/recaída de colitis inducida por sulfato sódico de dextrano en ratones

A continuación, se estudió el efecto terapéutico del compuesto F sobre la colitis en un modelo crónico. Se compraron ratones BALB/c hembra, 6 semanas de edad, peso corporal aproximadamente 20 g (Japan SLC), se aclimataron durante 1 semana y se usaron para el estudio. Los ratones se dividieron en un grupo de inducción de colitis y un grupo normal. El grupo de inducción de colitis se dejó que bebiera libremente una disolución al 2,6 % en peso/volumen de DSS (MP Biochemicals, M.W. 36.000 - 50.000, lote n° 4556J) para inducir colitis. En el día 8, cuando la puntuación de heces (definida en el Ejemplo 18) del grupo de inducción de colitis alcanzó aproximadamente 4,5, los ratones se subdividieron en un grupo de control, un grupo de administración de 1 mg/kg de compuesto F y un grupo de administración de 100 mg/kg de salazosulfapiridina (SIGMA, lote n° 085K1930, que va a abreviarse en lo sucesivo SASP). Entonces, se dejó que los ratones bebieran agua destilada en lugar de la disolución de DSS durante 9 días (periodo de remisión). Después de la agrupación, se evaluó la puntuación de heces cada 3 - 4 días. Cuando la puntuación del grupo de control alcanzó aproximadamente 1, se dejó de nuevo que los ratones bebieran la disolución de DSS para producir una recaída (periodo de recaída). Los periodos de remisión y recaída se tomaron como 1 ciclo y el ciclo se repitió 5 veces. Sin embargo, en cuanto al 5° ciclo solo se realizó el periodo de remisión.

Se administraron el compuesto F a una dosis de 1 mg/kg y SASP a una dosis de 100 mg/kg por vía oral una vez al día, diariamente, durante 50 días desde el periodo de remisión inicial (día 8 desde el inicio del 2,6 % en peso/volumen de bebida de DSS) hasta el quinto periodo de remisión (día 57 desde el inicio del 2,6 % en peso/volumen de bebida de DSS). El grupo de control se administró por vía oral con un disolvente (1 % en vol de disolución de etanol) a 10 ml/kg. Si un ratón tuvo puntuación 0 de tanto la puntuación de consistencia de las heces como la puntuación de sangre oculta el último día de cada periodo de remisión, el ratón se consideró como "en remisión". La relación de remisión (%) se calculó como una relación de ratones en remisión en cada grupo. Se usaron ocho a 10 ratones para cada grupo y los resultados se muestran en valor promedio.

Como resultado, la puntuación de heces del grupo de control aumentó en el periodo de recaída y disminuyó en el periodo de remisión. La puntuación fue significativamente superior a la del grupo normal casi durante todo el periodo

de estudio (Fig. 6). La relación de remisión del mismo fue 35,5 % en promedio de 5 periodos de remisión (Tabla 4). El compuesto F disminuyó la puntuación de heces pronto en el periodo de remisión y suprimió un aumento en la puntuación en el periodo de recaída. La relación de remisión del mismo no fue inferior al 60 % en ningún periodo de remisión, y el promedio fue del 66,0 %, que fue evidentemente superior al del grupo de control. Por otra parte, SASP no mostró un claro efecto sobre la puntuación de heces en tanto el periodo de remisión como el periodo de recaída. La relación de remisión del mismo fue ligeramente mayor en los ciclos 1º, 3º y 4º que el grupo de control, en cambio se redujo en los ciclos 2º y 5º, y el valor promedio fue equivalente al del grupo de control.

Como se muestra anteriormente, el compuesto F proporciona no solo un efecto profiláctico, sino también un efecto terapéutico, además de un efecto de mantenimiento de la remisión. Además, los efectos del mismo se consideran que son muy superiores a SASP en el uso clínico.

[Tabla 4]

Relación de remisión del modelo de remisión/recaída de colitis inducida por DSS en ratones

Tratamiento	Número de animales	Relación de remisión (%)					
		Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5	Promedio
Control	9	33,3	66,7	11,1	33,3	33,3	35,5
Compuesto F 1 mg/kg	10	60,0	80,0	70,0	60,0	60,0	66,0
SASP 100 mg/kg	8	50,0	50,0	37,5	50,0	12,5	40,0

[Ejemplo 21]

Efecto profiláctico sobre el modelo de colitis por transferencia de linfocitos T CD4⁺CD25⁻ en ratones

Se estudió el efecto sobre la enfermedad de Crohn, otro tipo de enfermedad inflamatoria del intestino. El modelo de transferencia de linfocitos T es muy conocido como modelo de enfermedad de Crohn, que desarrolla gastritis o enteritis crónica (véanse: Referencias F, G, H). Además, también puede considerarse un modelo animal de enfermedad de Behcet intestinal o úlcera simple, que padece úlcera intestinal similar acompañada de activación de linfocitos T (véanse: Referencias I, J).

Se compraron ratones BALB/cA Jcl hembra, 6 semanas de edad, peso corporal 19 - 23 g (CLEA Japan, Inc.) y ratones C.B-17/lcr-scid hembra (6 semanas de edad, CLEA Japan, Inc.), se aclimataron durante 1 semana y se usaron para el estudio.

Después de la laparotomía bajo anestesia con éter, los ratones BALB/cA Jcl se desangraron hasta la muerte por la aorta abdominal y la vena cava caudal, y se aisló el bazo. Se prepararon esplenocitos a partir del bazo y luego se prepararon linfocitos T CD4⁺CD25⁻ con un kit de aislamiento de linfocitos T CD4⁺ (nº 130-090-860, Milky Biotech Co., Ltd.) y anticuerpos para CD25-biotina (nº 130-092-569, Lechey Biotech Co., Ltd.). Las células se separaron usando el separador autoMACS Separator (Lechey Biotech Co., Ltd.). Los linfocitos T CD4⁺CD25⁻ separados se suspendieron en disolución de tampón fosfato fisiológico y se administraron intraperitonealmente 2,5×10⁵ células por animal a ratones C.B-17/lcr-scid para inducir la colitis.

Se administró inicialmente un mg/kg de compuesto F o prednisolona 5 h antes de la transferencia de linfocitos T CD4⁺CD25⁻, y se administró por vía oral después una vez al día, diariamente, durante 20 días. El grupo de control se administró por vía oral con un disolvente (1 % en vol de disolución de etanol) a 10 ml/kg. Un criterio de valoración clínico fue la suma de la puntuación de consistencia de las heces (0 - 5), la puntuación de sangre oculta fecal (0 - 4) y la puntuación de la disminución del peso corporal (0 - 5), llamada la puntuación del índice de actividad de enfermedad (abreviada en lo sucesivo la puntuación de DAI: mayor puntuación 14). La puntuación de consistencia de las heces se clasificó para la dureza de las heces como normales (0), ligeramente sueltas (1), algo sueltas (2), sueltas (3), considerablemente sueltas (4) y diarrea (5). La puntuación de sangre oculta fecal se evaluó del mismo modo que en el Ejemplo 18. La puntuación de la disminución del peso corporal se clasificó para los cambios en el peso corporal como aumento (0), disminución menos del 3 % (1), disminución no menos del 3 % y menos del 6 % (2), disminución no menos del 6 % y menos del 9 % (3), disminución no menos del 9 % y menos del 12 % (4), y disminución no menos del 12 % (5). Se usaron de ocho a 10 ratones para cada grupo y los resultados se expresaron como promedio.

Como resultado, la puntuación de consistencia de las heces y la puntuación de sangre oculta fecal del grupo de control mostró un claro aumento a partir de los 12 días después de la transferencia de linfocitos T y la puntuación de la disminución del peso corporal mostró un claro aumento en el día 19, alcanzando todos casi el máximo 21 días después. El compuesto F suprimió los aumentos en tanto la puntuación de consistencia de las heces como la puntuación de sangre oculta fecal por casi la mitad como se muestra en las Fig. 7 y 8, respectivamente, y previno el

aumento en la puntuación de la disminución del peso corporal casi completamente como se muestra en la Fig. 9. Por otra parte, aunque la prednisolona suprimió un aumento en la puntuación de sangre oculta fecal por casi el mismo nivel que la administración del compuesto F como se muestra en la Fig. 8, dejó de mostrar un claro efecto sobre la puntuación de consistencia de las heces en el día 21 como se muestra en la Fig. 7. Además, la puntuación de la disminución del peso corporal siguió a valores mayores que aquellos en el grupo de control durante el periodo de estudio como se muestra en Fig. 9, y la prednisolona empeoró claramente la puntuación. Como se muestra en la Fig. 10, la puntuación de DAI indicó que el compuesto F es ampliamente superior a la prednisolona.

Por tanto, el compuesto F puede suprimir la condición de enfermedad de Crohn, enfermedad de Behcet intestinal y úlcera simple, además de colitis ulcerosa, más eficazmente que los fármacos existentes.

Referencias

F) Immunol Rev. 182: 190-200 (2001).

G) Int. Immunopharmacol. 6(8): 1341-1354 (2006).

H) J. Immunol. 160(3): 1212-1218 (1998).

I) Clin. Exp. Immunol. 139(2): 371-378 (2005).

J) Histopathology. 45(4): 377-383 (2004).

[Ejemplo 22]

Efecto sobre el modelo de lesión de la mucosa gástrica inducida por etanol en ratas

Se investigó el efecto supresor del compuesto F sobre la lesión de la mucosa gástrica en el modelo de lesión de la mucosa gástrica inducida por etanol en ratas. Este modelo se usa frecuentemente como modelo animal de gastritis aguda humana asociada a lesión de la mucosa congestiva (Referencia K).

Se compraron ratas SD macho (7 semanas de edad, Charles River) mediante Oriental BioService Inc., se aclimataron durante 1 semana y se usaron para el estudio. Las ratas se agruparon basándose en el peso corporal, se colocaron en una jaula limpia con un suelo de malla de alambre un día antes del estudio, ayunaron durante 19 h (sin agua durante las últimas 3 h) y se administraron por vía oral con etanol (calidad especial, Nacalai Tesque, lote n° V8A5862, 1,5 ml) en todos los grupos para inducir lesión de la mucosa gástrica. El compuesto F se administró por vía oral a la dosis de 0,01, 0,1 y 1 mg/kg 30 min antes de la inducción de la lesión de la mucosa gástrica a un volumen de 5 ml/kg. El grupo de control se administró por vía oral con un disolvente (1 % en vol de disolución de etanol) a 5 ml/kg del mismo modo. Se usaron ocho animales para cada grupo.

Las ratas se sangraron hasta la muerte por la aorta abdominal y la vena cava caudal bajo anestesia con éter después de 1 h de la administración del etanol, y se aisló el estómago. El estómago aislado se llenó inmediatamente con 2 % en vol de disolución de formalina neutra (6 ml) y se fijó durante 15 min. El estómago se cortó a lo largo de la línea central de la mayor curvatura desde la parte cardíaca hasta la parte pilórica, y se extendió sobre un panel de cloruro de vinilo. Se midieron la longitud y anchura de cada úlcera bajo un estereomicroscopio, se calculó el área y la suma de la misma se tomó como el área de la úlcera total.

Como resultado, el área de la úlcera total del grupo de control promedió 103 mm². El compuesto F redujo significativamente el área de la úlcera total de un modo dependiente de la dosis de 0,01 mg/kg, y redujo casi completamente el área a una dosis de 1 mg/kg (Fig. 11). Así, el compuesto F suprimió la lesión de la mucosa gástrica.

Referencia

K) Dig Dis Sci. 31(2 Suppl), 81S-85S (1986).

[Ejemplo 23]

Efecto sobre el modelo de lesión del intestino delgado inducida por indometacina en ratas

Se investigó el efecto supresor del compuesto F sobre la lesión del intestino delgado usando el modelo de lesión del intestino delgado inducida por indometacina en ratas. Se sabe que la administración de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) induce lesión hemorrágica en el intestino delgado del ser humano. Este modelo se caracteriza por lesión de la mucosa del intestino delgado inducida por la administración de un AINE, indometacina, a rata y muestra patología similar a la de la lesión del intestino delgado inducida por AINE o enfermedad de Crohn en ser humano (Referencias L y M).

Se compraron ratas SD macho, 7 semanas de edad (Charles River), se aclimataron durante 1 semana y se usaron para el estudio. Las ratas se agruparon basándose en el peso corporal y se administraron subcutáneamente con

indometacina (SIGMA, lote nº 19F0018) a 15 mg/5 ml/kg a todos los grupos para inducir lesión del intestino delgado. El compuesto F a la dosis de 0,01, 0,1 y 1 mg/kg se administró por vía oral a un volumen de 5 ml/kg 30 min antes y 6 h después de la administración subcutánea de la indometacina. El grupo de control se administró por vía oral con un disolvente (1 % en vol de disolución de etanol) a 5 ml/kg del mismo modo. Se usaron ocho animales para cada grupo.

Las ratas se administraron intravenosamente con 2 ml de 10 mg/ml de disolución de azul de Evans bajo anestesia con éter 23,5 h después de la administración de la indometacina. Después de 30 min, las ratas se sangraron hasta la muerte por la aorta abdominal y la vena cava caudal bajo anestesia con éter y se aisló el intestino delgado. El intestino delgado aislado se llenó con una cantidad adecuada (aproximadamente 35 ml) de 2 % en vol de disolución de formalina neutra y se fijó durante aproximadamente 15 min. Después, el intestino delgado se cortó completamente a lo largo del sitio de unión mesentérico y se extendió sobre un panel de cloruro de vinilo. Se midieron la longitud y anchura de cada úlcera bajo un estereomicroscopio, se calculó el área y la suma de la misma se tomó como el área de la úlcera total.

Como resultado, el área de la úlcera total en el intestino delgado fue aproximadamente 730 mm² en el grupo de control. A diferencia, el grupo de administración del compuesto F redujo significativamente el área de úlcera de un modo dependiente de la dosis de una dosis de 0,1 mg/kg de administración, y redujo completamente el área a una dosis de 1 mg/kg (Fig. 12). Así, el compuesto F suprimió fuertemente la lesión del intestino delgado.

Referencias

L) Aliment Pharmacol Ther. 7(1), 29-39 (1993).

M) Acta Gastroenterol Belg. 57(5-6), 306-309 (1994).

De lo anterior, el compuesto F mostró una acción supresora superior sobre la lesión directa a la mucosa del tubo gastrointestinal debido al alcohol y similares y el fallo regenerativo de la mucosal debido a AINE y similares. Por tanto, se espera que el compuesto F muestre un efecto protector y un efecto de reparación de tejido sobre la lesión de la mucosa del tubo gastrointestinal.

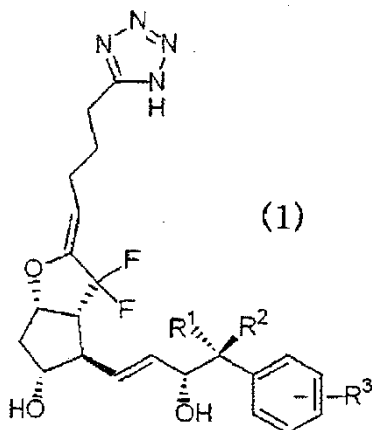
Como se muestra en los ejemplos anteriormente mencionados y se encuentra con el compuesto F, el compuesto de la presente invención es eficaz para lesión del tubo gastrointestinal y retardo en la cura debido a inflamación inmunorrelacionada del tubo digestivo, lesión de la mucosa inducida por fármacos del tubo gastrointestinal y fallo regenerativo de la mucosa inducida por fármacos. Específicamente, es útil para enfermedad inflamatoria del intestino tal como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn, gastritis alcohólica o úlcera gástrica, úlcera del intestino delgado y similares, y no se limita a las enfermedades citadas.

Aplicabilidad industrial

El derivado de PGI₂ de la presente invención es útil como principio activo de medicamentos. Un medicamento que contiene derivado de PGI₂ de la presente invención como principio activo es útil como medicamento para la profilaxis o tratamiento de enfermedades inflamatorias y enfermedades de úlceras del tubo digestivo. Particularmente, es útil como medicamento para la profilaxis o tratamiento de colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, gastritis o úlcera gástrica, úlcera del intestino delgado.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de la prostaglandina I₂ representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



- 5 en la que R¹ y R² son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de cadena lineal que tiene un número de carbonos de 1 a 3, y R³ es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene un número de carbonos de 1 a 4, un grupo alcoxialquilo, un grupo arilo, un átomo de halógeno o un grupo haloalquilo.
2. El derivado de la prostaglandina I₂ según la reivindicación 1, en el que R¹ es un grupo metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 3. El derivado de la prostaglandina I₂ según la reivindicación 1 ó 2, en el que R³ es un grupo metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. El derivado de la prostaglandina I₂ según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R² es un átomo de hidrógeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 15 5. El derivado de la prostaglandina I₂ según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que R¹ es un grupo metilo y R² es un átomo de hidrógeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
6. El derivado de la prostaglandina I₂ según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que R³ es un grupo m-metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
7. El derivado de la prostaglandina I₂ según la reivindicación 1, en el que R¹ es un grupo metilo, R² es un átomo de hidrógeno y R³ es un grupo metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 8. El derivado de la prostaglandina I₂ según la reivindicación 1, en el que R¹ es un átomo de hidrógeno, R² es un grupo metilo y R³ es un grupo metilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
9. Un medicamento que comprende el derivado de la prostaglandina I₂ según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo.
- 25 10. Un medicamento para la profilaxis o tratamiento de una enfermedad del tubo digestivo que comprende el derivado de la prostaglandina I₂ según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo.
11. El medicamento según la reivindicación 10, en el que la enfermedad del tubo digestivo es una enfermedad inflamatoria del tubo digestivo.
12. El medicamento según la reivindicación 11, en el que la enfermedad inflamatoria del tubo digestivo es una enfermedad inflamatoria del intestino.
- 30 13. El medicamento según la reivindicación 12, en el que la enfermedad inflamatoria del intestino es colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.
14. El medicamento según la reivindicación 12, en el que la enfermedad inflamatoria del intestino es enfermedad de Behcet intestinal o úlcera simple.
- 35 15. El medicamento según la reivindicación 10, en el que la enfermedad del tubo digestivo es enfermedad ulcerosa del tubo digestivo.

16. El medicamento según la reivindicación 15, en el que la enfermedad ulcerosa del tubo digestivo es gastritis o úlcera gástrica.

17. El medicamento según la reivindicación 16, en el que la gastritis o úlcera gástrica es gastritis inducida por fármacos o úlcera gástrica.

5 18. El medicamento según la reivindicación 17, en el que la gastritis inducida por fármacos o úlcera gástrica se induce por un fármaco antiinflamatorio no esteroideo.

19. El medicamento según la reivindicación 16, en el que la gastritis o úlcera gástrica se induce por alcohol.

20. El medicamento según la reivindicación 15, en el que la enfermedad ulcerosa del tubo digestivo es úlcera del intestino delgado.

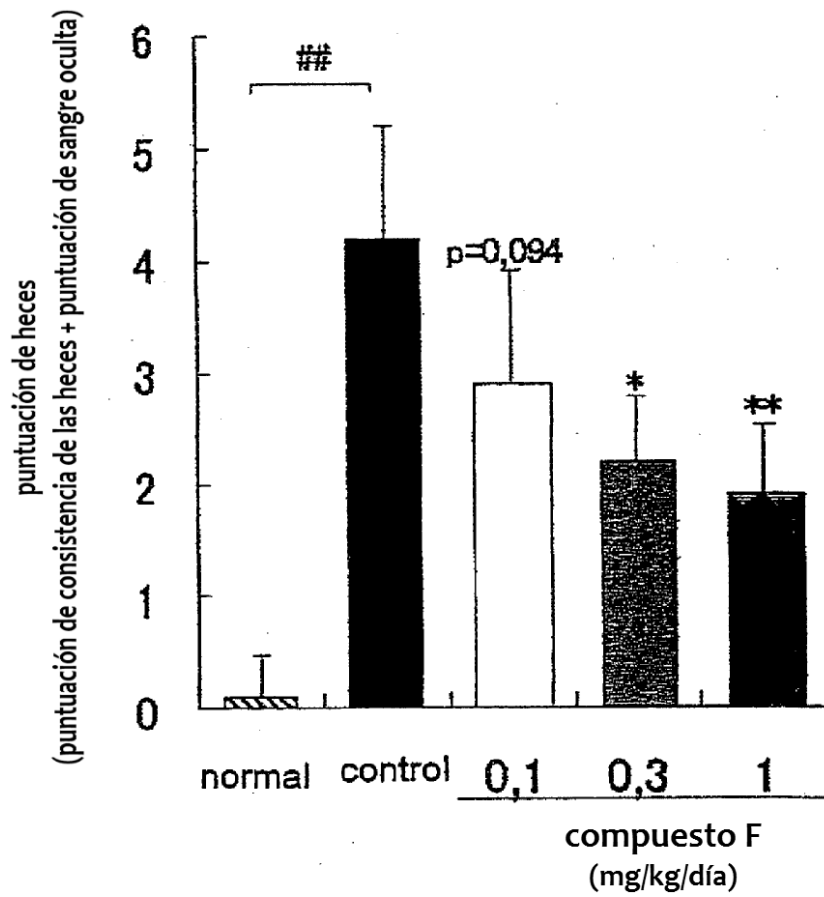
10 21. El medicamento según la reivindicación 20, en el que la úlcera del intestino delgado es una úlcera del intestino delgado inducida por fármacos.

22. El medicamento según la reivindicación 21, en el que la úlcera del intestino delgado inducida por fármacos se induce por un fármaco antiinflamatorio no esteroideo.

23. El medicamento según la reivindicación 20, en el que la úlcera del intestino delgado se induce por alcohol.

15

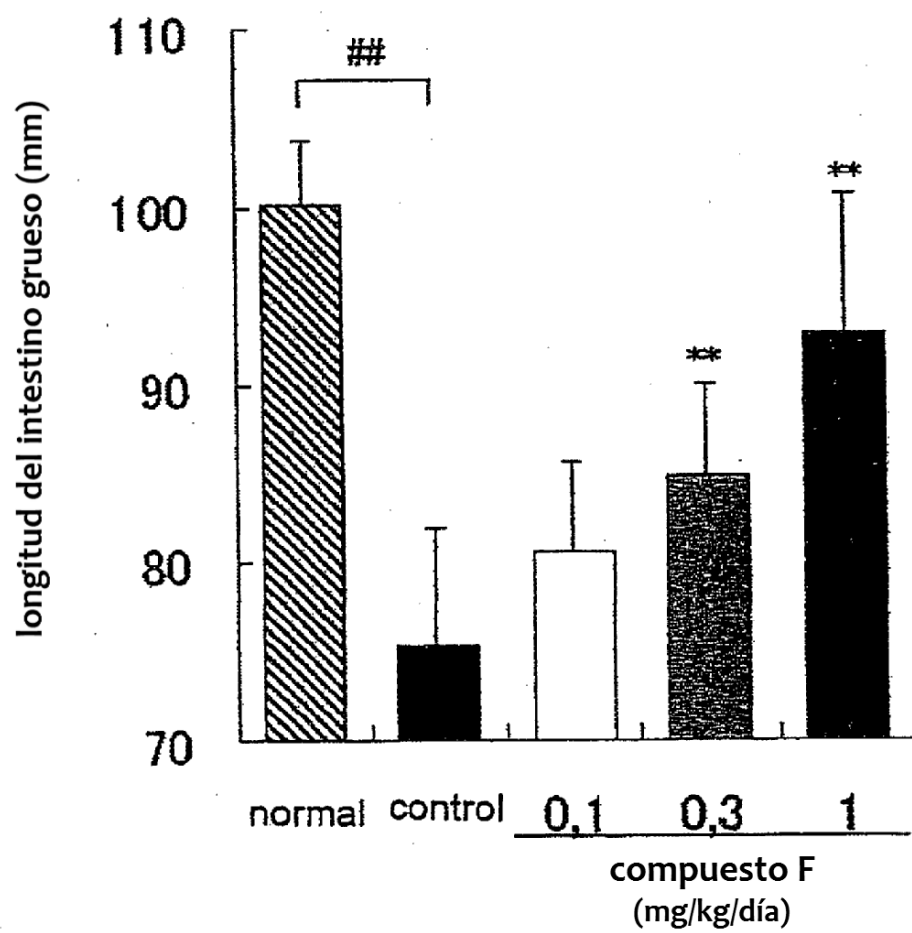
FIG. 1



$p < 0,01$

*, ** $p < 0,05$, $p < 0,01$ frente al control, respectivamente

FIG. 2



p<0,01

** p<0,01 frente al control

FIG. 3

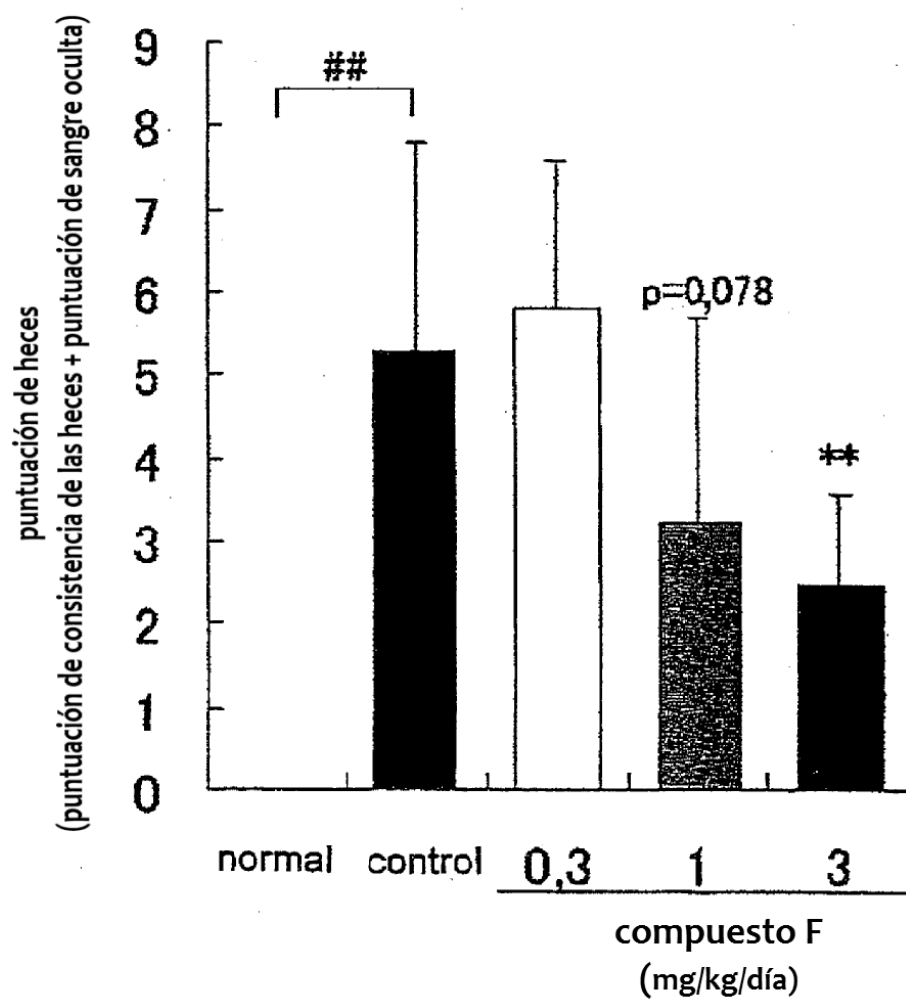


FIG. 4

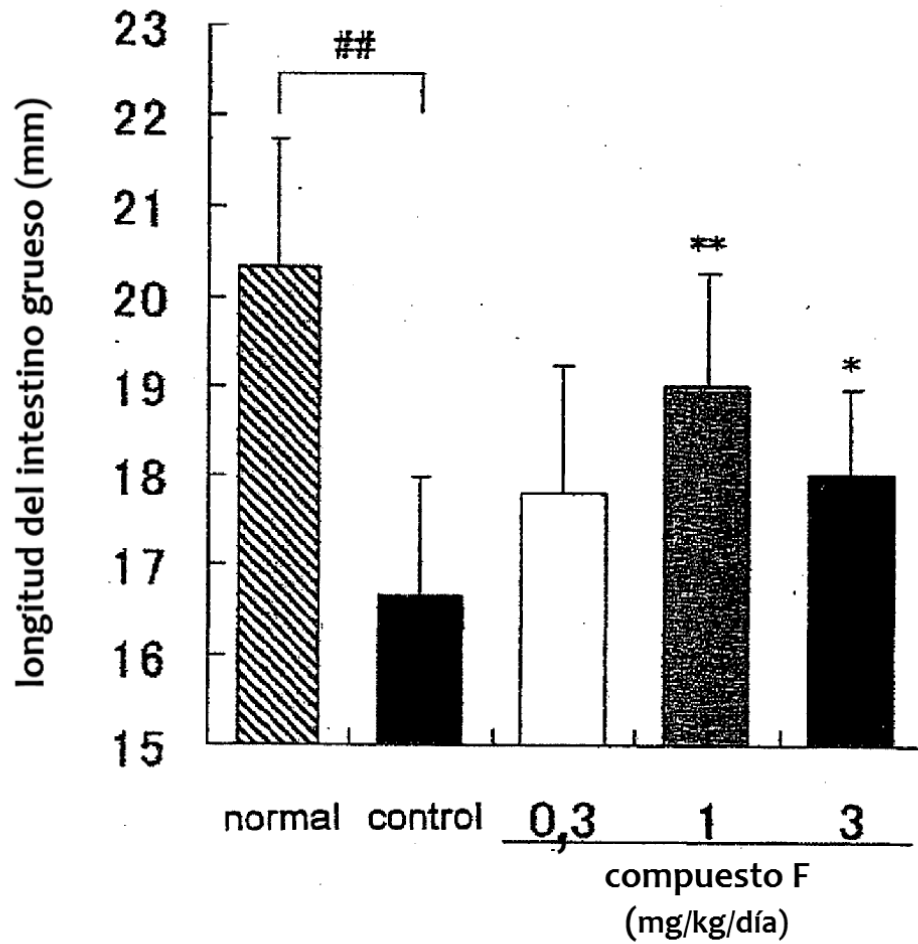
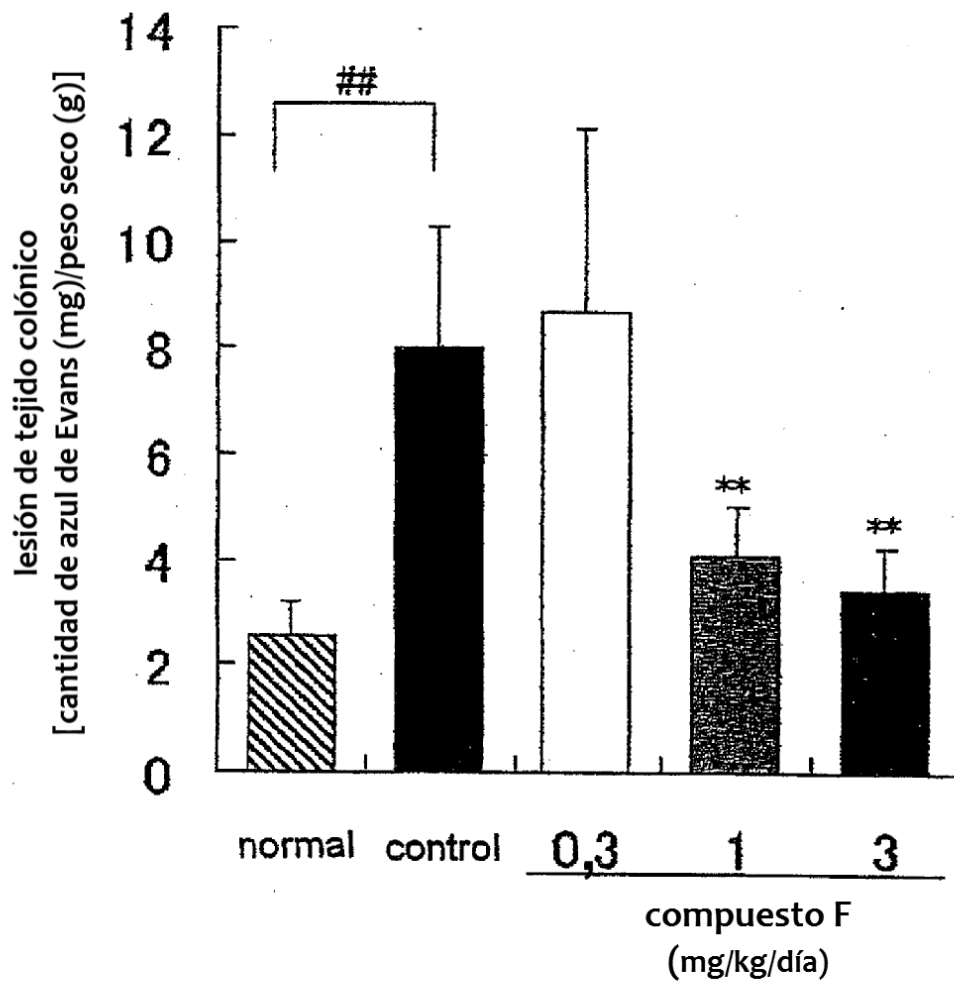


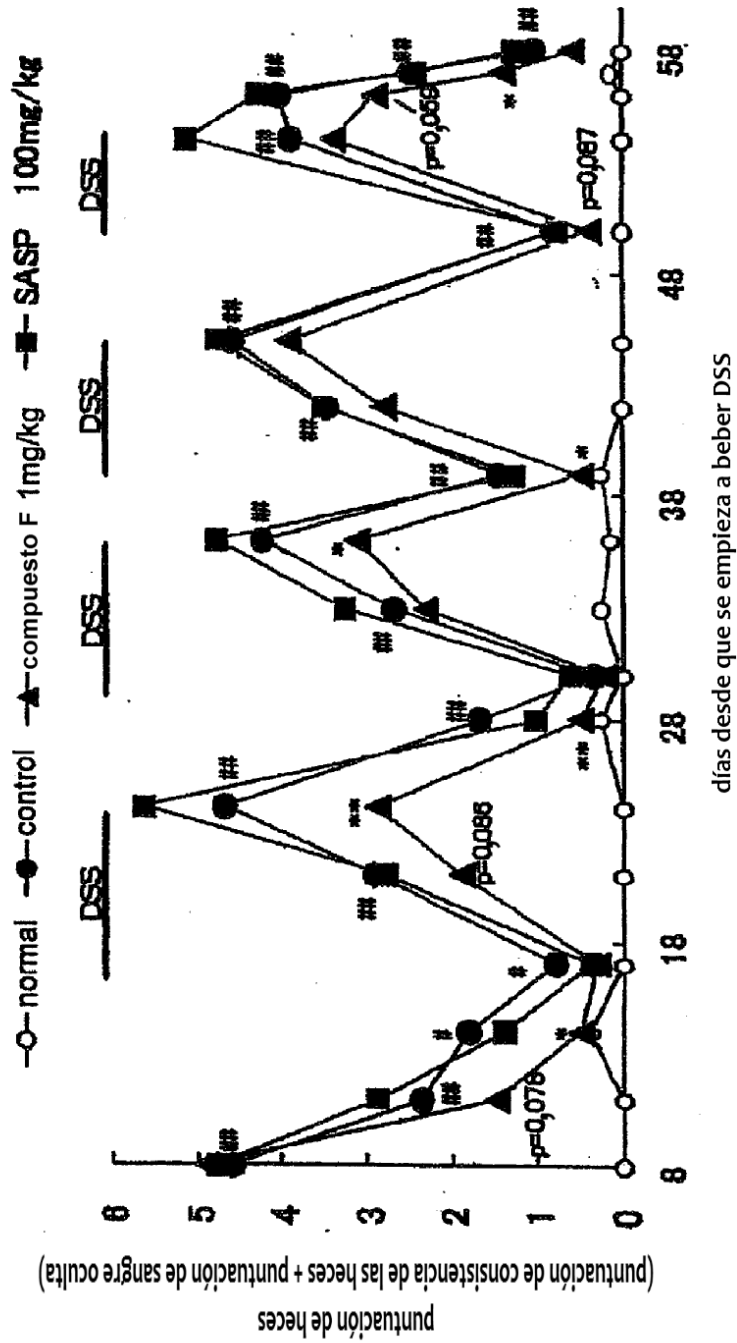
FIG. 5



$p < 0,01$

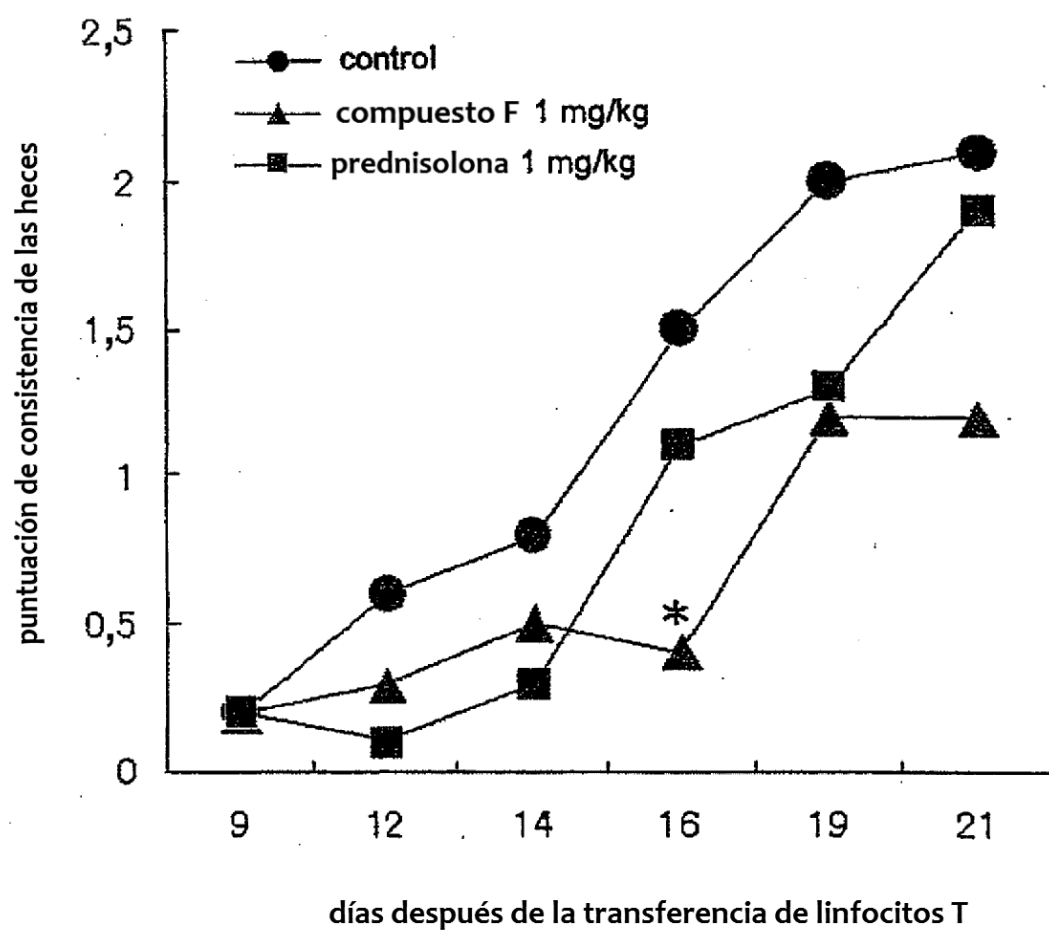
** $p < 0,01$ frente al control

FIG. 6



#, ## $p<0,05$, $p<0,01$ para control frente a normal, respectivamente
 *, ** $p<0,05$, $p<0,01$ frente al control, respectivamente

FIG. 7



* $p < 0,05$ frente al control

FIG. 8

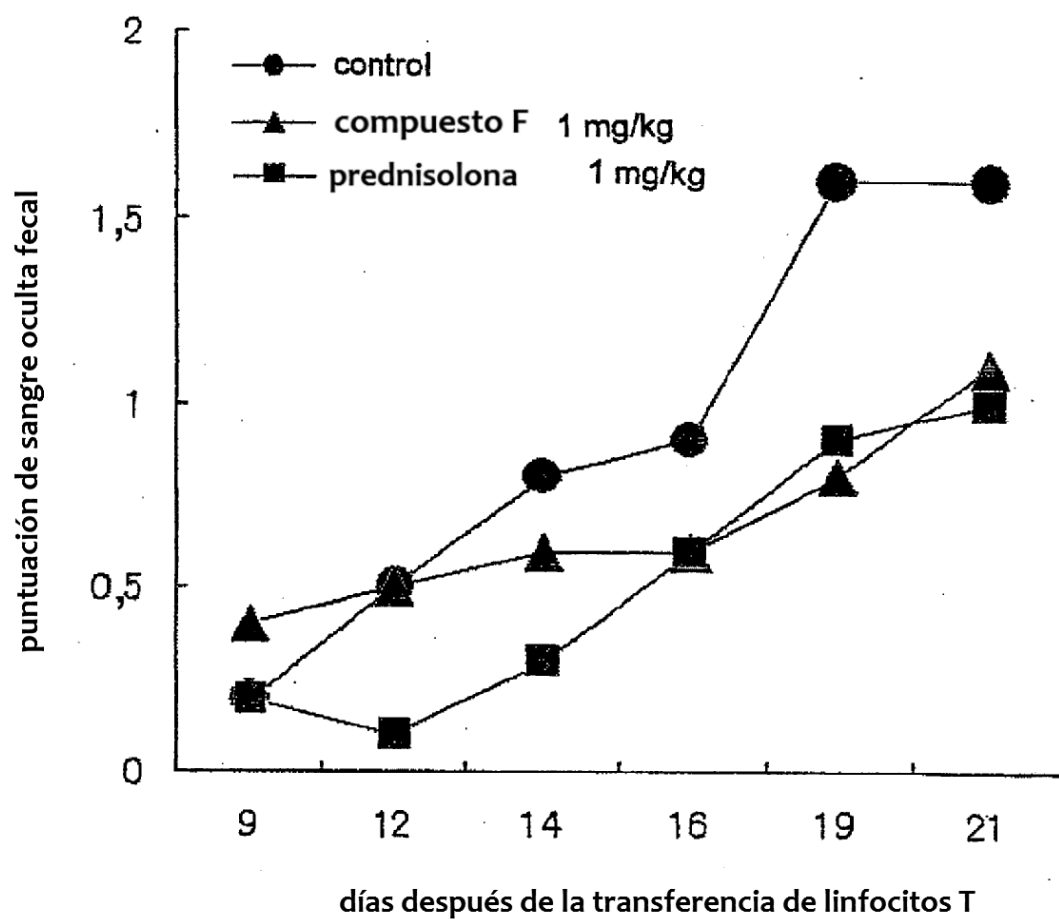


FIG. 9

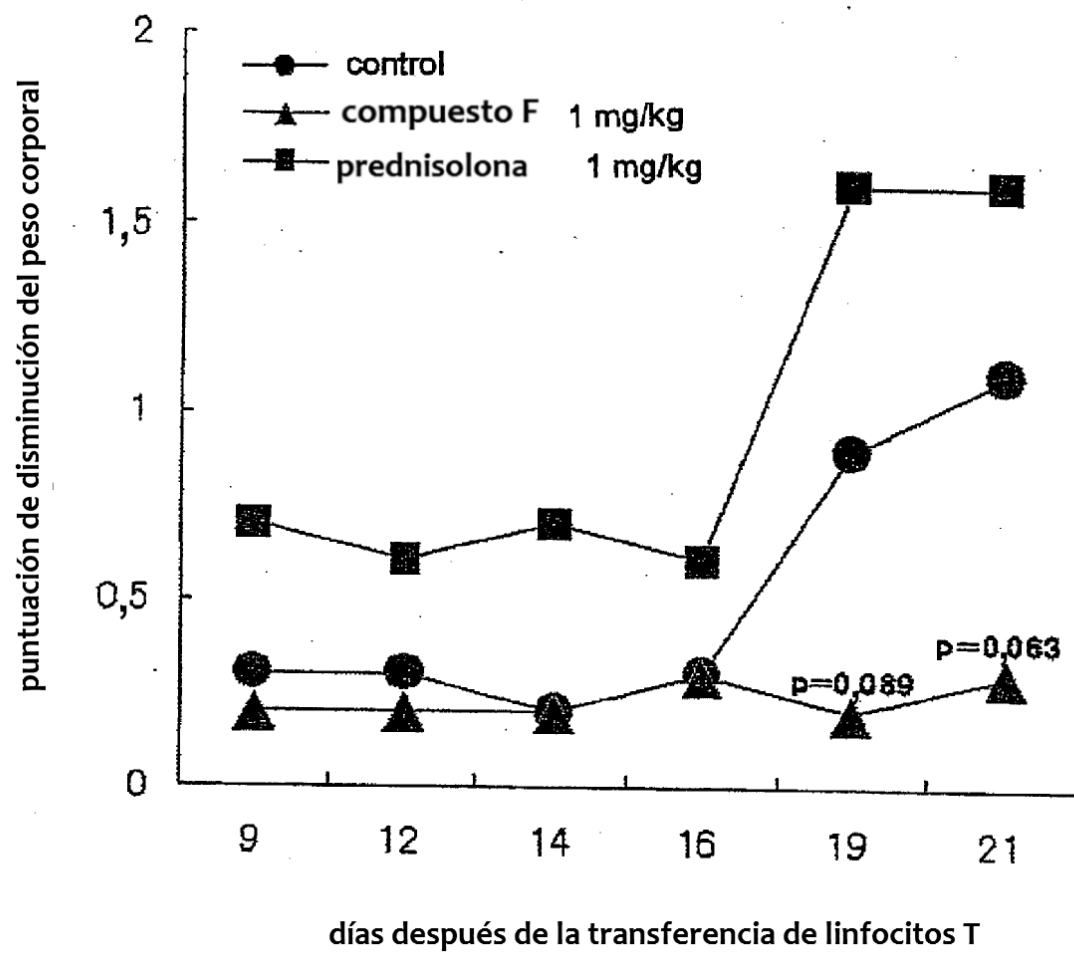
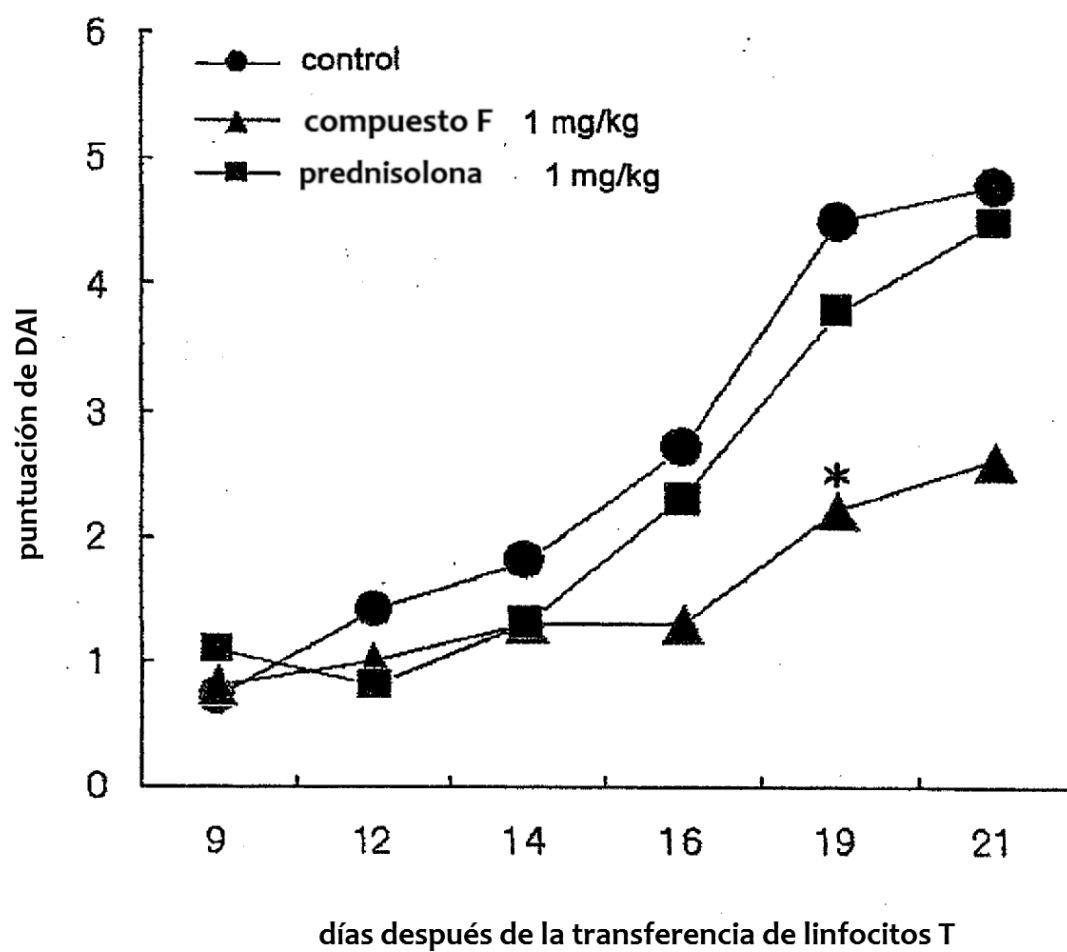
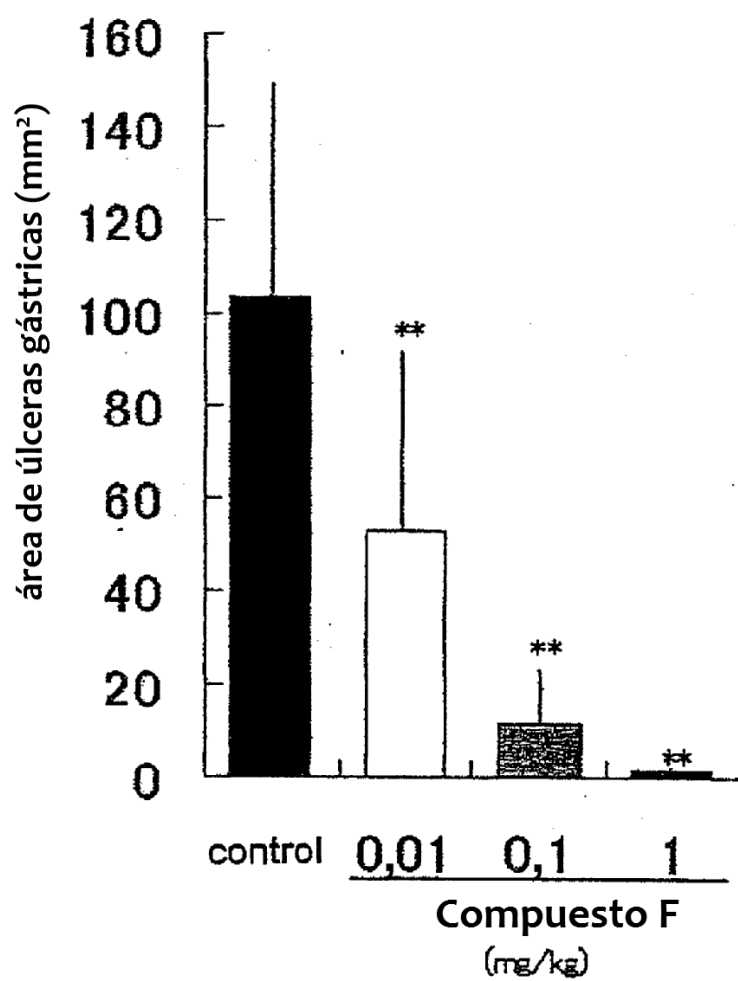


FIG. 10



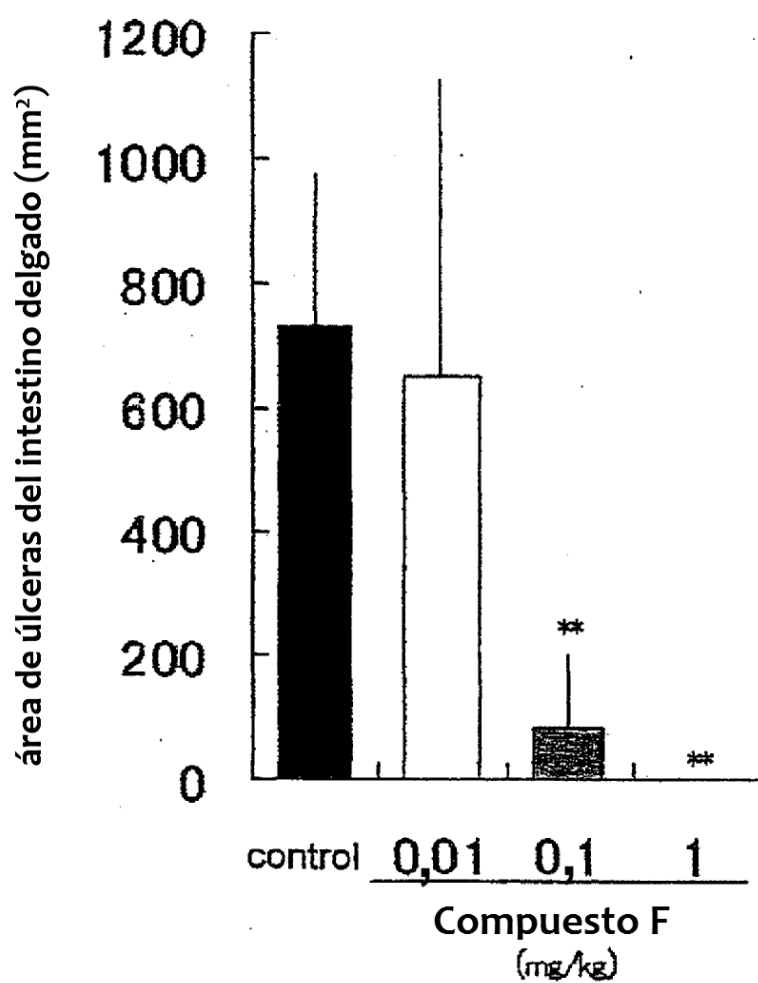
* $p < 0,05$ frente al control

FIG. 11



** $p < 0,01$ frente al control

FIG. 12



** $p < 0,01$ frente al control