

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 684**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7076 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

C07H 19/167 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2010** **E 10770402 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015** **EP 2424546**

54 Título: **Método de reducción de la presión intraocular en humanos**

30 Prioridad:

24.06.2009 US 219990 P

01.05.2009 US 174655 P

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

22.12.2015

73 Titular/es:

INOTEK PHARMACEUTICALS CORPORATION
(100.0%)

91 Hartwell Avenue, Second Floor
Lexington, MA 02421, US

72 Inventor/es:

BARMAN, SHIKHA y
BAUMGARTNER, RUDOLF A.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 554 684 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

Método de reducción de la presión intraocular en humanos

Solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos Nº 61/174.655, presentada el 1 de mayo de 2009. Esta solicitud reivindica también la prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos Nº 61/219.990, presentada el 24 de junio de 2009.

Campo técnico de la invención

- 10 Se describen en la presente memoria métodos para reducir la presión intraocular (del inglés "intraocular pressure" IOP) en los seres humanos. Se proporcionan también en la presente memoria los usos de ciertos compuestos en sujetos humanos para reducir y/o controlar la presión intraocular elevada o que fluctúa anormalmente en el tratamiento de glaucoma o hipertensión ocular (del inglés "ocular hypertension" OHT).

Antecedentes de la invención

- 15 El glaucoma se refiere a un grupo de neuropatías ópticas que se caracterizan por pérdida de células ganglionares de la retina y atrofia del nervio óptico con la consiguiente pérdida de campo visual. La enfermedad es la principal causa de ceguera irreversible en el mundo y la segunda causa de ceguera, detrás de las cataratas. Los ensayos clínicos han demostrado que la presión intraocular elevada es un importante factor de riesgo para el glaucoma y han validado el papel de la reducción de la IOP en el tratamiento del glaucoma.

- 20 El glaucoma se clasifica según tres parámetros: 1) la causa subyacente, esto es, primario (idiopático) o secundario (asociado con algunas otras afecciones oculares o sistémicas); 2) el estado del ángulo de la cámara anterior, esto es, de ángulo abierto (acceso abierto del humor acuoso que fluye a la malla trabecular) o de ángulo cerrado (ángulo estrecho; la malla trabecular está bloqueada por la aposición del iris periférico y la córnea); y 3) la cronicidad, esto es, agudo o crónico. Aunque existen formas secundarias de glaucoma con etiologías claras (por ejemplo, pseudoexfoliación y dispersión pigmentaria), la forma más común de glaucoma es el glaucoma primario de ángulo abierto (del inglés "primary open angle glaucoma" POAG).

- 25 La hipertensión ocular (OHT) es una condición en la que la IOP es elevada, pero no se han observado resultados glaucomatosos (Bell, 2005). El estudio de la hipertensión ocular ha demostrado que los pacientes con IOP tienen un riesgo general del 10 % durante 5 años de desarrollar glaucoma y que este riesgo se puede reducir a la mitad mediante el establecimiento de tratamiento médico que reduce la IOP.

- 30 Las terapias farmacológicas que han demostrado ser eficaces para la reducción de la presión intraocular incluyen tanto los agentes que disminuyen la producción de humor acuoso como los agentes que aumentan la facilidad de flujo. Estas terapias son administradas, en general, por una de las dos vías posibles: por vía tópica (aplicación directa al ojo) o por vía oral. Sin embargo, las estrategias farmacéuticas oculares anti-hipertensión han presentado varios efectos secundarios indeseables. Por ejemplo, los mióticos tales como la pilocarpina pueden causar visión borrosa, dolores de cabeza y otros efectos secundarios visuales negativos. Los inhibidores de la anhidrasa carbónica administrados sistémicamente pueden causar también náuseas, dispepsia, fatiga y acidosis metabólica. Ciertas prostaglandinas causan hiperemia, picor ocular, y oscurecimiento de las pestañas y tejidos periorbitales. Además, ciertos beta-bloqueadores; se han asociado cada vez más con efectos secundarios pulmonares serios atribuibles a sus efectos sobre los receptores beta 2 del tejido pulmonar. Los simpaticomiméticos ocasionan taquicardia, arritmia e hipertensión. Tales efectos secundarios negativos pueden llevar a disminuir el cumplimiento de la terapia o a la terminación de la terapia por parte del paciente de tal modo que la visión normal continúa deteriorándose. Además, hay individuos que simplemente no responden bien cuando son tratados con ciertas terapias existentes del glaucoma.

Existe, por lo tanto, la necesidad de otros agentes terapéuticos que controlen la IOP.

Sumario de la invención

- 45 Se proporciona en esta memoria un compuesto para uso en el tratamiento de la presión intraocular elevada, glaucoma, OHT o glaucoma primario de ángulo abierto, en donde el compuesto es ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)-metil-nitrato (compuesto A). En una realización, las enfermedades y afecciones causadas por la IOP elevada en un ser humano se seleccionan del grupo que consiste en glaucoma de tensión normal, hipertensión ocular, y glaucoma primario de ángulo abierto.
- 50 Por lo tanto, en un primer aspecto, se describe un método para reducir la presión intraocular que comprende la etapa de: aplicar una cantidad eficaz de una composición farmacéutica oftálmica a un ojo afectado de un ser humano, comprendiendo la composición una cantidad eficaz de compuesto A.

En una realización, la invención comprende aplicar de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 7,0 mg/mL de compuesto A de 1 a 4 veces al día. En otra realización, la invención comprende aplicar aproximadamente 20-700 µg de compuesto A de 1 a 2 veces al día. En otra realización, la invención comprende aplicar aproximadamente 350 µg de compuesto A de 1 a 2 veces al día.

5 Cuando se practica la invención, el compuesto se puede administrar en gotas, por ejemplo, 1 a 2 gotas. En una realización, la IOP del ojo afectado se reduce al menos un 10 %, por ejemplo, al menos un 10-20 %, por ejemplo, un 20 % o más. En una realización, la IOP del ojo afectado se reduce al menos un 10 % durante más de 3 horas, por ejemplo, al menos un 10-20 % durante más de 3 horas, por ejemplo, un 20 % o más durante más de 3 horas. En una realización, la IOP del ojo afectado se reduce al menos un 10 % durante al menos 6 horas.

10 En otra realización, la invención incluye además la aplicación previa, simultánea o secuencial, de un segundo agente reductor de la IOP. El segundo agente reductor de la IOP se selecciona del grupo que consiste en β-bloqueadores, análogos de prostaglandinas, inhibidores de la anhidrasa carbónica, inhibidores de la rho-cinasa, agonistas α₂, mióticos, neuroprotectores, antagonistas A3, agonistas A2A, moduladores de canales de iones y combinaciones de los mismos.

15 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un método para reducir la IOP y enfermedades y condiciones asociadas causadas por IOP elevada en un sujeto humano mediante la administración de una cantidad eficaz de un agonista selectivo A1 a un ojo afectado del sujeto. En una realización, las enfermedades y condiciones causadas por la IOP elevada en un ser humano se seleccionan del grupo que consiste en glaucoma de tensión normal, OHT, y glaucoma primario de ángulo abierto. El agonista selectivo A1 es el compuesto A definido anteriormente.

20 Cuando se practica el método, el agonista selectivo A1 se puede administrar en gotas, por ejemplo, de 1 a 2 gotas. En una realización de este método, la IOP del ojo afectado se reduce al menos un 10 %, por ejemplo, al menos un 10-20 %, por ejemplo, un 20 % o más. En una realización, la IOP del ojo afectado se reduce al menos un 10 % durante más de 3 horas, por ejemplo, al menos un 10-20 % durante más de 3 horas, por ejemplo, un 20 % o más durante más de 3 horas. En una realización, la IOP del ojo afectado se reduce al menos un 10 % durante al menos 6 horas.

En una realización de los métodos descritos en la presente memoria, la cantidad eficaz del agonista selectivo de adenosina A1 es de al menos 20 µg, por ejemplo, entre 60 µg y 350 µg, por ejemplo, entre 60 µg y 700 µg.

30 En una realización se administra la cantidad eficaz del agonista selectivo de adenosina A1 en una sola dosis. En otra realización, la cantidad eficaz del agonista selectivo de adenosina A1 se administra como una dosis dos veces al día.

35 En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica oftálmica que comprende el compuesto A como se ha definido anteriormente y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. El vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable se puede seleccionar del grupo que consiste en: conservantes, tensioactivos, potenciadores de viscosidad, potenciadores de penetración, agentes gelificantes, bases hidrófobas, vehículos, tampones, cloruro de sodio y agua, oftalmológicamente aceptables.

40 En una realización, la composición comprende además un segundo agente reductor de la IOP además de un compuesto de la Fórmula I como se ha definido antes. El segundo agente reductor de la IOP se puede seleccionar del grupo que comprende: β-bloqueadores, análogos de prostaglandinas, inhibidores de la anhidrasa carbónica, inhibidores de la rho-cinasa, agonistas α₂, mióticos, neuroprotectores, antagonistas A3, agonistas A2A, moduladores de canales de iones y combinaciones de los mismos.

La composición terapéutica puede comprender de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 7,0 mg/mL, por ejemplo, de aproximadamente 0,4 mg/mL a aproximadamente 7,0 mg/mL, de dicho compuesto A.

45 El compuesto A es ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)-metilnitrato.

50 En un aspecto adicional, el compuesto A agonista selectivo de adenosina A1 se puede utilizar para reducir y/o controlar la IOP asociada con el glaucoma de tensión normal, OHT, y glaucoma primario de ángulo abierto en los seres humanos. En ciertas realizaciones, cuando se usa para tratar el glaucoma de tensión normal o la OHT, el compuesto A se puede formular en composiciones farmacéuticamente aceptables adecuadas para la administración tópica al ojo.

Otra realización de la presente invención comprende una composición farmacéutica oftálmica útil en la reducción de la presión intraocular, que comprende una cantidad eficaz de compuesto A..

En otro aspecto de la invención, se proporciona una formulación oftálmica para uso en la reducción de la presión intraocular, que comprende de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 7 mg/mL de compuesto A como se ha definido anteriormente y de 1 mg/mL a aproximadamente 140 mg/mL de hidroxipropil β -ciclodextrina en solución salina para inyección.

- 5 En una realización, la formulación comprende aproximadamente 7 mg/mL de compuesto A: ((2R,3S,4R,5R)-5-(2-cloro-6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)-metil-nitrato.

Se ha de apreciar además que el compuesto A como se ha definido antes, o las composiciones oftálmicas como se han definido antes se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento para reducir la IOP en un ojo afectado de un sujeto humano.

- 10 El breve resumen anterior describe en términos generales las características y ventajas técnicas de ciertas realizaciones de la presente invención. Otras ventajas técnicas se describirán en la descripción detallada de la invención que sigue. Características novedosas que se cree que son característica de la invención se comprenderán mejor a partir de la descripción detallada de la invención cuando se considere en conexión con las figuras y ejemplos adjuntos. Las figuras y ejemplos proporcionados en esta memoria están destinados a ayudar a ilustrar la invención o
- 15 ayudar en el desarrollo de una comprensión de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el esquema de escalada de la dosis en los 7 grupos de tratamiento del estudio clínico multicéntrico, aleatorizado, doble ciego. Se asignaron aleatoriamente doce sujetos a cada grupo de tratamiento: 8 sujetos recibieron el compuesto A y 4 sujetos recibieron placebo.

- 20 La figura 2a muestra la media de la IOP (mm Hg) en el ojo de estudio en cada punto de tiempo en todos los grupos de tratamiento.

La figura 2b muestra la mediana de la IOP (mm Hg) en el ojo de estudio en todos los grupos de tratamiento en cada punto de tiempo.

- 25 La figura 3a muestra la media absoluta del cambio de la IOP desde la IOP predosis (mm Hg) en el ojo de estudio en todos los grupos de tratamiento en cada punto de tiempo.

La figura 3b muestra la mediana del cambio absoluto de la IOP desde la IOP predosis (mm Hg) en el ojo de estudio en todos los grupos de tratamiento.

- 30 La figura 4a presenta un gráfico resumen del análisis de respondedores en los 7 grupos de tratamiento aproximadamente 2 horas postdosis, donde es evidente la mayor diferencia en la IOP entre los ojos tratados con fármaco y los tratados con placebo.

La figura 4b presenta un gráfico resumen de los análisis de respondedores en los 7 grupos de tratamiento utilizando la media de la tasa de respondedores en un período de observación de 6 horas postdosis.

La figura 5 muestra la media y la mediana del % de reducción desde la línea base (BL; predosis) y el análisis categórico de respondedores de la cohorte de 350 mcg durante todo el período de observación postdosis.

- 35 La figura 6 muestra la media y la mediana del porcentaje de reducción estadísticamente significativo de las IOPs (a partir de las determinaciones de la IOP desde la línea base predosis) observado en la cohorte de 350 mcg con respecto a la respuesta del placebo.

La figura 7 muestra la media y la mediana del % de reducción desde la línea base (BL; predosis) y el análisis categórico de respondedores de la cohorte de 700 mcg durante un período de observación de 10 horas postdosis.

- 40 La figura 8 muestra la media y la mediana del porcentaje de reducción estadísticamente significativo de las IOPs (a partir de las determinaciones de la IOP desde la línea base predosis) observado en la cohorte de 700 mcg con respecto a la respuesta del placebo.

Descripción detallada de la invención

- 45 Las realizaciones de la presente invención proporcionan el compuesto A para uso en el tratamiento, reducción y control de la presión intraocular (IOP) elevada y/o en el tratamiento del glaucoma, hipertensión ocular o glaucoma primario de ángulo abierto.

La adenosina es un nucleósido de purina que modula muchos procesos fisiológicos. La señalización celular por la adenosina se produce a través de cuatro subtipos de receptores de adenosina: A_1 , A_{2A} , A_{2B} y A_3 como está descrito por Ralevic and Burnstock (Pharmacol Rev. 50: 413-492, 1988) y Fredholm BB et al. (Pharmacol Rev. 53: 527-552,

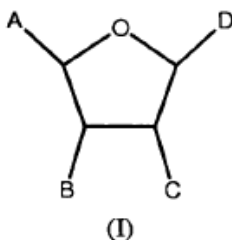
2001). En el ojo, los agonistas del receptor de adenosina A₁ reducen la IOP en ratones, conejos y monos (Tian B et al. Exp Eye Res. 64: 979-989, 1997; Crosson CE. J Pharmacol Exp Ther. 273: 320-326, 1995; y Avila MY et al. Br J Pharmacol. 134: 241-245, 2001). Aunque otras publicaciones han hecho notar que los agonistas del receptor de adenosina A₁ en el ojo se dirigen a la ruta de flujo de salida convencional a través de la malla trabecular (Husain S et al. J Pharmacol Exp Ther. 320: 258-265, 2007), no se ha excluido la reducción de la IOP a través de otras rutas.

Cabe señalar que la caída muy fuerte de la IOP mediada por el receptor de adenosina A₁ descrita en los estudios preclínicos a menudo va precedida por una elevación inmediata, aunque transitoria de la IOP después de la instilación del ligando del receptor A₁ (Crosson CE and Grey T. Inv Ophthal Visual Sci. 37, [9] 1833-1839, 1996). Se han observado elevaciones transitorias de la IOP de ~ 3- 9 mm Hg en una "ventana" de ~30 minutos después de la administración. Este fenómeno puede surgir de la reactividad cruzada entre los subtipos de receptores de adenosina dentro del ojo. Los estudios farmacológicos indican que esta elevación transitoria de la IOP podría ser debida, al menos en parte, a la activación de los receptores de adenosina A_{2B} (Crosson, 1996). Por lo tanto, el desarrollo de un agonista de A₁ altamente selectivo que reduzca solamente la IOP, parece que sería más defendible que el desarrollo de fármacos basados en los receptores de adenosina A₂ para el tratamiento de la IOP, ya que los agonistas de A_{2A} pueden aumentar, disminuir o ejercer efectos mixtos sobre la IOP (Konno, 2004; Konno, J Pharmacol Sci., 2005; Konno, Eur J Pharmacol. 2005).

Los compuestos que actúan como agonistas selectivos de adenosina A₁ son conocidos y han demostrado una variedad de utilidades. La patente de Estados Unidos N° 7.423.144 para Jagtap et al., describe dichos compuestos agonistas selectivos de adenosina A₁ para la prevención o el tratamiento de taquiarritmias (ritmo cardíaco elevado), trastornos de dolor, y lesión por isquemia-reperfusión.

Se ha descubierto en estudios clínicos que los agonistas selectivos de adenosina A₁ reducen la IOP en los seres humanos. En particular, se describen aquí compuestos de la fórmula I {p. ej., compuestos A, B, C, D, E, F, G o H} que pueden reducir la presión intraocular en un sujeto {p. ej., un ser humano) que lo necesite.

Los compuestos de la fórmula I tienen la siguiente estructura:



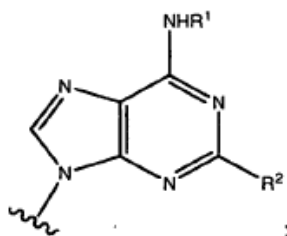
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables,

en donde

A es -CH₂ONO₂ o -CH₂OSO₃H;

B y C son -OH;

D es



A y B son *trans* uno con respecto a otro;

B y C son *cis* uno con respecto a otro;

C y D son *cis* o *trans* uno con respecto a otro;

R^1 es -H, -alquilo C_1-C_{10} , -arilo, -heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros, -heterociclo bicíclico de 8 a 12 miembros, -cicloalquilo monocíclico C_3-C_8 , -cicloalquenilo monocíclico C_3-C_8 , -cicloalquilo bicíclico C_8-C_{12} , -cicloalquenilo bicíclico C_8-C_{12} , $-(CH_2)_n$ -(cicloalquilo monocíclico C_3-C_8), $-(CH_2)_n$ -(cicloalquenilo monocíclico C_3-C_8), $-(CH_2)_n$ -(cicloalquilo bicíclico C_8-C_{12}), $-(CH_2)_n$ -(cicloalquenilo bicíclico C_8-C_{12}), o $-(CH_2)_n$ -arilo;

- 5 R^2 es -H, halo, -CN, $-NHR^4$, $-NHC(O)R^4$, $-NHC(O)OR^4$, $-NHC(O)NHR^4$, $-NHNHC(O)R^4$, $-NHNHC(O)OR^4$, $-NHNHC(O)NHR^4$, o $-NH-N=C(R^6)R^7$;

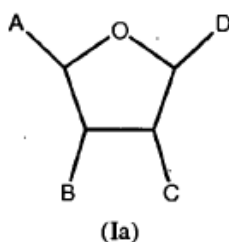
R^4 es -alquilo C_1-C_{15} , -arilo, $-(CH_2)_n$ -arilo, $-(CH_2)_n$ -(heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros), $-(CH_2)_n$ -(heterociclo bicíclico de 8 a 12 miembros), $-(CH_2)_n$ -(cicloalquilo monocíclico C_3-C_8), $-(CH_2)_n$ -(cicloalquenilo monocíclico C_3-C_8), $-(CH_2)_n$ -(cicloalquilo bicíclico C_8-C_{12}), $-(CH_2)_n$ -(cicloalquenilo bicíclico C_8-C_{12}), $-C\equiv C$ -(alquilo C_1-C_{10}) o $-C\equiv C$ -arilo;

- 10 R^6 es -alquilo C_1-C_{10} , -arilo, $-(CH_2)_n$ -arilo, $-(CH_2)_n$ -(heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros), $-(CH_2)_n$ -(heterociclo bicíclico de 8 a 12 miembros), $-(CH_2)_n$ -cicloalquilo monocíclico C_3-C_8 , $-(CH_2)_n$ -cicloalquenilo monocíclico C_3-C_8 , $-(CH_2)_n$ -cicloalquilo bicíclico C_8-C_{12} , $-(CH_2)_n$ -cicloalquenilo bicíclico C_8-C_{12} , $-(CH_2)_n$ -cicloalquenilo monocíclico C_3-C_8 , -fenileno- $(CH_2)_nCOOH$, o -fenileno- $(CH_2)_nCOO$ -(alquilo C_1-C_{10});

- 15 R^7 es -H, -alquilo C_1-C_{10} , -arilo, $-(CH_2)_n$ -arilo, $-(CH_2)_n$ -(heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros), $-(CH_2)_n$ -(heterociclo bicíclico de 8 a 12 miembros), $-(CH_2)_n$ -cicloalquilo monocíclico C_3-C_8 , $-(CH_2)_n$ -cicloalquenilo monocíclico C_3-C_8 , $-(CH_2)_n$ -cicloalquenilo bicíclico C_8-C_{12} o $-(CH_2)_n$ -cicloalquilo bicíclico C_8-C_{12} ; y

cada n es independientemente un número entero que varía de 1 a 5, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, los compuestos para uso en la invención son compuestos que tienen la fórmula



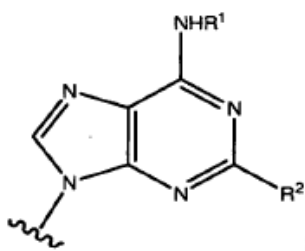
- 20 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables,

en donde

A es $-CH_2ONO_2$ o $-CH_2OSO_3H$;

B y C son -OH;

D es



- 25

A y B son *trans* uno con respecto a otro;

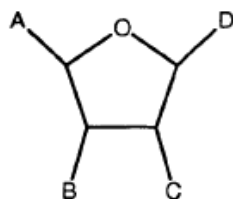
B y C son *cis* uno con respecto a otro;

C y D son *cis* o *trans* uno con respecto a otro;

R^1 es -cicloalquilo monocíclico C_3-C_8 , -heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros, o -cicloalquilo bicíclico C_8-C_{12} ; y

- 30 R^2 es -H o -halo.

En una realización adicional, los compuestos para uso en la invención son compuestos que tienen la fórmula



(Ib)

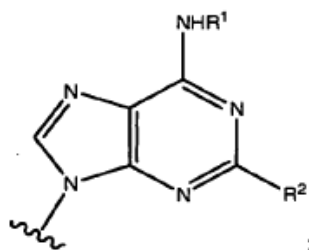
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables,

5 en donde

A es $-\text{CH}_2\text{ONO}_2$;

B y C son $-\text{OH}$;

D es



;

10 A y B son *trans* uno con respecto a otro;

B y C son *cis* uno con respecto a otro;

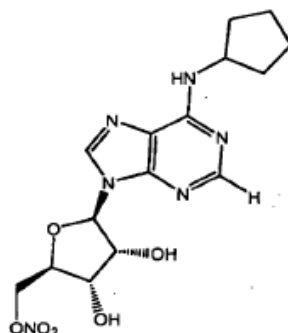
C y D son *cis* o *trans* uno con respecto a otro;

R¹ es -cicloalquilo monocíclico C₃-C₈, -heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros, o -cicloalquilo bicíclico C₈-C₁₂; y

R² es -H o -halo.

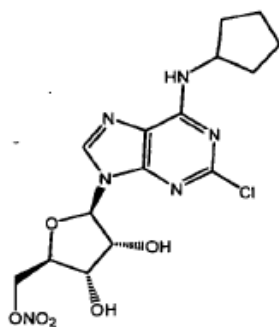
15 El compuesto de la fórmula I es uno de los siguientes compuestos:

Compuesto A

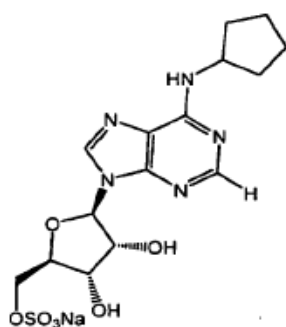


((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-yl)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)-metil-nitrato,

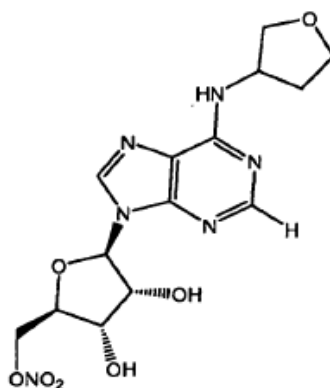
Compuesto B (no forma parte de la invención)



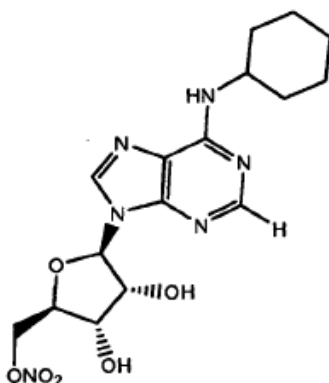
((2R,3S,4R,5R)-5-(2-cloro-6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)-metil-nitrato,
Compuesto C (no forma parte de la invención)



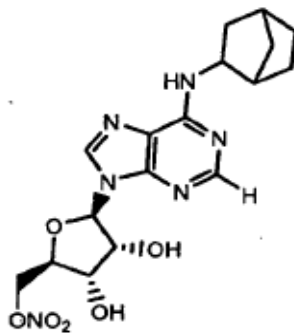
5 ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)-metil-sulfato de sodio,
Compuesto D (no forma parte de la invención)



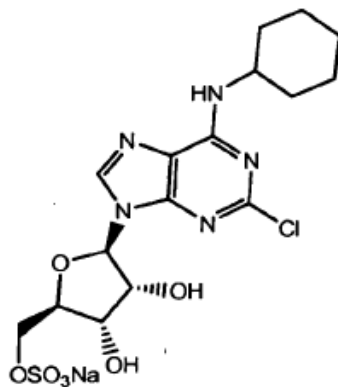
((2R,3S,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(6-(tetrahidrofuran-3-ilamino)-9H-purin-9-il) tetrahidrofuran-2-il)-metil-nitrato,
Compuesto E (no forma parte de la invención)



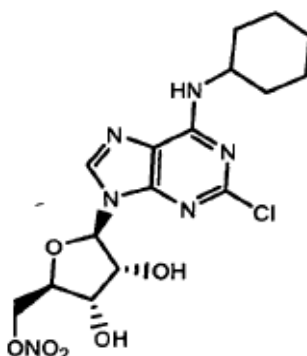
((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclohexilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil-nitrato,
Compuesto F (no forma parte de la invención)



5 ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(biciclo-[2.2.1]-heptan-2-ilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil-nitrato,
Compuesto G (no forma parte de la invención)



((2R,3S,4R,5R)-5-(2-cloro-6-(ciclohexilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil-sulfato de sodio, y
Compuesto H (no forma parte de la invención)



((2R,3S,4R,5R)-5-(2-cloro-6-(ciclohexilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil-nitrato,

o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Cuando existan discrepancias entre el nombre de un compuesto y la estructura de un compuesto, la estructura química es la que manda.

En otra realización, se proporciona en la presente memoria un método para reducir la presión intraocular elevada, que comprende administrar una cantidad eficaz del Compuesto A a un ser humano. En aún otra realización, se proporciona aquí un método para reducir la presión intraocular, que comprende aplicar una cantidad eficaz del Compuesto A en un ojo afectado de un ser humano. En aún otra realización, se proporciona aquí un método para tratar el glaucoma, que comprende administrar a un ojo afectado de un ser humano una cantidad eficaz de Compuesto A. En otra realización, se proporciona aquí un método para tratar la OHT, que comprende administrar a un ojo afectado de un ser humano una cantidad eficaz del Compuesto A. En aún otra realización, se proporciona aquí un método para tratar el glaucoma primario de ángulo abierto, que comprende administrar a un ojo afectado de un ser humano una cantidad eficaz del Compuesto A. En una realización, se aplican de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 7,0 mg/mL de Compuesto A en un ojo afectado de un ser humano de 1 a 4 veces al día. En una realización, se aplican aproximadamente 20-700 µg de Compuesto A en un ojo afectado de un ser humano de 1 a 4 veces al día. En otra realización, se aplican aproximadamente 350 µg de Compuesto A en un ojo afectado de un ser humano de 1 a 4 veces al día. El Compuesto A se puede administrar en gotas, por ejemplo, 1 a 2 gotas.

En otra realización, se proporciona en esta memoria una formulación oftálmica tópica para reducir la presión intraocular en un ser humano que comprende de 0,05 mg/mL a aproximadamente 7 mg/mL de Compuesto A, y de 1 mg/mL a aproximadamente 140 mg/mL de hidroxipropil β-ciclodextrina en solución salina para inyección. Esta formulación se puede utilizar para tratar el glaucoma, la OHT, o el glaucoma primario de ángulo abierto en un ser humano.

En otra realización, se proporciona en esta memoria el uso de Compuesto A para reducir la presión intraocular elevada en un sujeto. En otra realización, se proporciona en esta memoria el uso del Compuesto A para el tratamiento del glaucoma en un sujeto. En otra realización, se proporciona en esta memoria el uso del Compuesto A para tratar la OHT en un sujeto. En otra realización, se proporciona en esta memoria el uso del Compuesto A para tratar el glaucoma primario de ángulo abierto en un sujeto.

Se reconoce que los compuestos de la fórmula I pueden contener uno o más centros quirales. Esta descripción se refiere a todos enantiómeros, diastereoisómeros, y mezclas de los mismos de la fórmula I.

Además, ciertas divulgaciones de la presente descripción se refieren a las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos según la fórmula I.

Las sales farmacéuticamente aceptables comprenden, pero no se limitan a, las formas solubles o dispersables de los compuestos según la fórmula I que son adecuadas para el tratamiento de la enfermedad sin efectos indeseables indebidos tales como reacciones alérgicas o toxicidad.

Las sales farmacéuticamente aceptables representativas incluyen, pero no se limitan a, sales de adición de ácido tales como acetato, citrato, benzoato, lactato, o fosfato y sales de adición de base tales como litio, sodio, potasio, o aluminio.

Definiciones

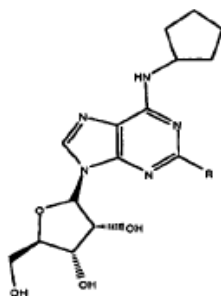
Como se utiliza aquí, el término "agonista selectivo de adenosina A₁" significa un agonista A₁ que tiene una alta afinidad por el receptor A₁ mientras que tiene simultáneamente una baja afinidad por los receptores de adenosina A₂

y A₃. Los compuestos de la fórmula I (por ejemplo, los compuestos A a H) anteriores tienen afinidades para el receptor A₁ considerablemente superiores a sus respectivas afinidades para los receptores A_{2A} y A₃. Los datos de selectividad para A₁ de los compuestos A a H se resumen en la siguiente tabla.

Compuesto	POTENCIA A ₁ (K _i (nm))	SELECTIVIDAD A ₁ >A _{2A} [K _i A ₂ (nm)/ K _i A ₁ (nm)]	SELECTIVIDAD A ₁ >A ₃ [K _i A ₃ (nm)/ K _i A ₁ (nm)]
CPA	2,3	345	31,3
CCPA	0,83	2735	50
Compuesto A	0,97	4837	725
Compuesto B	2,63	1593	195
Compuesto C	4,05	2250	251
Compuesto D	10,6	>9434	202
Compuesto E	1,32	878	1098
Compuesto F	1,47	3945	260
Compuesto G	1,36	200	130
Compuesto H	8	192	167

- 5 En otra realización, para los fines de la presente invención, se considera un agonista selectivo de A₁ un compuesto que tiene una selectividad de afinidad de unión a A₁ con respecto a la afinidad de unión a A₃ mayor que aproximadamente 130 (esto es, A₁>A₃ [K_iA₃(nm)/K_iA₁(nm)]).

CPA y CCPA son ejemplos de agonistas de A₁ conocidos. Sin embargo, estos compuestos tienen una relación inferior de selectividad de receptor A₁/receptor A₃:



- 10 cuando R = H = ciclopentiladenosina (CPA) y cuando R = Cl = 2-cloro-ciclopentiladenosina (CCPA).

- 15 Como se utiliza aquí, el término "alquilo" se refiere a un resto hidrocarburo ramificado o no ramificado totalmente saturado. Preferiblemente, el alquilo comprende 1 a 20 átomos de carbono, más preferiblemente 1 a 16 átomos de carbono, 1 a 10 átomos de carbono, 1 a 7 átomos de carbono, o 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo y similares. Además, la expresión "alquilo C_x-C_y", en donde x es 1-5 e y es 2-15 indica un grupo alquilo particular (de cadena lineal o ramificada) de un intervalo particular de carbonos. Por ejemplo, la expresión alquilo C₁-C₄ incluye, pero no se limita a, metilo, etilo, propilo, butilo, isopropilo, terc-butilo e isobutilo. El
- 20 término alquilo incluye, pero no se limita a, alquilo C₁-C₁₅, alquilo C₁-C₁₀ y alquilo C₁-C₆.

El término "alquilo C₁-C₁₅" como se utiliza aquí, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene de 1 a 15 átomos de carbono. Los grupos alquilo C₁-C₁₅ representativos incluyen, pero no se limitan a metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, isohexilo, neohexilo, heptilo, isoheptilo, neoheptilo, octilo, isooctilo, neooctilo, nonilo, isononilo, neononilo, decilo, isodecilo,

neodecilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo y pentadecilo. En una realización, el grupo alquilo C₁-C₁₅ está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el alquilo C₁-C₁₅ es insustituido.

- 5 El término "alquilo C₁-C₁₀" como se utiliza aquí, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. Los grupos alquilo C₁-C₁₀ representativos incluyen, pero no se limitan a metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, isohexilo, neohexilo, heptilo, isoheptilo, neoheptilo, octilo, isooctilo, neooctilo, nonilo, isononilo, neononilo, decilo, isodecilo y neodecilo. En una realización, el grupo alquilo C₁-C₁₀ está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el alquilo C₁-C₁₀ es insustituido. El alquilo C₁-C₁₀ incluye, pero no se limita a, alquilo C₁-C₆.

- 10 El término "alquilo C₁-C₆" como se utiliza aquí, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada, que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Los grupos alquilo C₁-C₁₀ representativos incluyen, pero no se limitan a metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, isohexilo, y neohexilo. A menos que se indique otra cosa, el alquilo C₁-C₆ es insustituido.

- 15 El término "arilo" como se utiliza aquí, se refiere a un grupo fenilo o un grupo naftilo. En una realización, el grupo arilo está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el arilo es insustituido.

- 20 El término "cicloalquilo monocíclico C₃-C₈" como se utiliza en la presente memoria es un anillo cicloalquilo monocíclico no aromático, saturado, de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros. Los grupos cicloalquilo monocíclico C₃-C₈ representativos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. En una realización, el grupo cicloalquilo monocíclico C₃-C₈ está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el cicloalquilo monocíclico C₃-C₈ es insustituido.

- 25 El término "cicloalqueno monocíclico C₃-C₈", como se usa en la presente memoria es un anillo carbocíclico monocíclico no aromático de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que tiene al menos un doble enlace endocíclico, pero que no es aromático. Se debe entender que cuando cualquiera de dos grupos, junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un grupo cicloalqueno monocíclico C₃-C₈, el átomo de carbono al que están unidos los dos grupos sigue siendo tetravalente. Los grupos cicloalqueno monocíclico C₃-C₈ representativos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropeno, ciclobuteno, 1,3-ciclobutadieno, ciclopenteno, 1,3-ciclopentadieno, ciclohexeno, 1,3-ciclohexadieno, ciclohepteno, 1,3-cicloheptadieno, 1,4-cicloheptadieno, -1,3,5-cicloheptatrieno, cicloocteno, 1,3-ciclooctadieno, 1,4-ciclooctadieno, -1,3,5-ciclooctatrieno. En una realización, el grupo cicloalqueno monocíclico C₃-C₈ está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el cicloalqueno monocíclico C₃-C₈ es insustituido.

- 30 El término "cicloalquilo bicíclico C₈-C₁₂" tal como se utiliza en la presente memoria es un sistema de anillos de cicloalquilo bicíclico no aromático, saturado, de 8, 9, 10, 11 o 12 miembros. Los grupos cicloalquilo bicíclico C₈-C₁₂ representativos incluyen, pero no se limitan a, decahidronaftaleno, octahidroindeno, decahidrobenzociclohepteno, y dodecahidroheptaleno. En una realización, el grupo cicloalquilo bicíclico C₈-C₁₂ está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el cicloalquilo bicíclico C₈-C₁₂ es insustituido.

- 35 El término "cicloalqueno bicíclico C₈-C₁₂" como se utiliza en la presente memoria es un sistema de anillos de cicloalquilo bicíclico no aromático de 8, 9, 10, 11 o 12 miembros, que tiene al menos un doble enlace endocíclico. Se debe entender que cuando cualquiera de dos grupos, junto con el átomo de carbono al que están unidos forma un grupo cicloalqueno bicíclico C₈-C₁₂, el átomo de carbono al que los dos grupos están unidos sigue siendo tetravalente. Los grupos cicloalqueno bicíclicos C₈-C₁₂ representativos incluyen, pero no se limitan a, octahidronaftaleno, hexahidronaftaleno, hexahidroindeno, tetrahidroindeno, octahidrobenzociclohepteno, hexahidrobenzociclohepteno, tetrahidrobenzociclohepteno, decahidroheptaleno, octahidroheptaleno, hexahidroheptaleno, y tetrahidroheptaleno. En una realización, el grupo cicloalquilo bicíclico C₈-C₁₂ está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el cicloalqueno bicíclico C₈-C₁₂ es insustituido.

El término "halo" tal como se utiliza aquí se refiere a -F, -Cl, -Br o -I.

El término "heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros" se refiere a: (i) un cicloalquilo monocíclico no aromático de 3 o 4 miembros en el que 1 de los átomos de carbono del anillo ha sido reemplazado por un átomo de N, O o S; o (ii) un cicloalquilo monocíclico aromático o no aromático de 5, 6 o 7 miembros, en el que 1-4 de los átomos de carbono del anillo han sido reemplazados independientemente por un átomo de N, O o S. Los heterociclos monocíclicos no aromáticos de 3 a 7 miembros pueden estar unidos mediante un átomo de nitrógeno, azufre o carbono del anillo. Los heterociclos monocíclicos aromáticos de 3 a 7 miembros están unidos mediante un átomo de carbono del anillo. Los ejemplos representativos de un grupo heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros incluyen, pero no se limitan a furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, morfolinilo, oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, piperazinilo, piperidinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, quinucidinilo, tetrahidrofuranilo, tiadiazinilo, tiadiazolilo, tienilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiomorfolinilo, tiofenilo, triazinilo, triazolilo. En una realización, el grupo heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros está sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el heterociclo monocíclico de 3 a 7 miembros es insustituido.

El término "heterociclo bicíclico de 8 a 12 miembros" se refiere a un cicloalquilo bicíclico aromático o no aromático de 8 a 12 miembros en el que uno o ambos de los anillos del sistema de anillos bicíclico tienen 1-4 de sus átomos de carbono en el anillo reemplazados independientemente por un átomo de N, O o S. Se incluyen en esta clase los heterociclos monocíclicos de 3 a 7 miembros que se fusionan a un anillo de benceno. Un anillo no aromático de un heterociclo monocíclico de 8 a 12 miembros, está unido mediante un átomo de nitrógeno, azufre o carbono del anillo. Un heterociclo monocíclico aromático de 8 a 12 miembros está unido mediante un átomo de carbono del anillo. Los ejemplos de heterociclos bicíclicos de 8 a 12 miembros incluyen, pero no se limitan a, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, bencisoxazolilo, bencisotiazolilo, bencimidazolinilo, cinolinilo, decahidroquinolinilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, isobenzofuranilo, isoindazolilo, isoindolilo, isoindolinilo, isoquinolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, quinoxalinilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, y xantenilo. En una realización, cada anillo del grupo heterociclo bicíclico de 8 a 12 miembros puede estar sustituido con uno o más de los siguientes grupos: -halo, -O-(alquilo C₁-C₆), -OH, -CN, -COOR', -OC(O)R', -N(R')₂, -NHC(O)R' o -C(O)NHR' en los que cada R' es independientemente -H o alquilo C₁-C₆ insustituido. A menos que se indique otra cosa, el heterociclo bicíclico de 8 a 12 miembros está insustituido. Ejemplos representativos de un "grupo fenileno" se representan a continuación.

La frase "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente memoria, es una sal de un ácido y un átomo de nitrógeno básico de un compuesto de purina. Las sales ilustrativas incluyen, pero no se limitan a sales sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (esto es, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). La sal farmacéuticamente aceptable puede ser también una sal canforsulfonato. El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere también a una sal de un compuesto de purina que tiene un grupo funcional ácido, tal como un grupo funcional ácido carboxílico, y una base. Las bases adecuadas incluyen, pero no se limitan a, hidróxidos de metales alcalinos tales como sodio, potasio y litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos tales como calcio y magnesio; hidróxidos de otros metales, tales como aluminio y zinc; amoníaco, y aminas orgánicas, tales como mono-, di-, o tri-alquilaminas insustituidas o sustituidas con hidroxilo, diciclohexilamina; tributil-amina; piridina; N-metilamina, N-etilamina; dietilamina; trietilamina; mono-, bis-, o tris-(2-OH-alquilaminas inferiores), tales como mono-, bis-, o tris-(2-hidroxietil)amina, 2-hidroxi-terc-butilamina, o tris-(hidroximetil)metilamina, N,N-di-alquilo inferior-N-(hidroxil-alquilo inferior)-aminas, tales como N,N-dimetil-N-(2-hidroxietil)amina o tri-(2-hidroxietil)amina; N-metil-D-glucamina; y aminoácidos tales como arginina, lisina, y similares. El término "sal farmacéuticamente aceptable" incluye también un hidrato de un compuesto de purina. Algunas estructuras químicas en la presente memoria se representan utilizando líneas en negrita y líneas de rayas para representar los enlaces químicos. Estas líneas en negrita y de rayas representan la estereoquímica absoluta. Una línea en negrita indica que un sustituyente está por encima del plano del átomo de carbono al que está unido y una línea de rayas indica que un sustituyente está por debajo del plano del átomo de carbono al que está unido.

El término "cantidad eficaz" como se usa aquí, se refiere a una cantidad de un agonista selectivo de adenosina A1 que es eficaz para: (i) el tratamiento o prevención de la IOP elevada; o (ii) la reducción de la IOP en un ser humano.

El término "sujeto" se refiere a un ser humano, por ejemplo un ser humano que padece o está en riesgo de padecer o que es potencialmente capaz de padecer un aumento de la IOP.

El término "tratar", "tratado", "tratando" o "tratamiento" incluye la disminución o el alivio de al menos un síntoma asociado o causado por el estado, trastorno o enfermedad que se trata. En ciertas realizaciones, el tratamiento

comprende la inducción de IOP elevada, seguido por la activación del compuesto de la invención, que podría a su vez disminuir o aliviar al menos un síntoma asociado o causado por la IOP elevada. Por ejemplo, el tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de un trastorno o la erradicación completa de un trastorno.

El término "uso" incluye una cualquiera o más de las siguientes realizaciones de la invención, respectivamente: el uso en el tratamiento de la IOP elevada; el uso para la fabricación de composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento de estas enfermedades, por ejemplo, en la fabricación de un medicamento; métodos de uso de los compuestos de la invención en el tratamiento de estas enfermedades; preparaciones farmacéuticas que tienen compuestos de la invención para el tratamiento de estas enfermedades; y los compuestos de la invención para uso en el tratamiento de estas enfermedades; como sea apropiado y conveniente, si no se indica otra cosa. En particular, las enfermedades a tratar y que son por lo tanto preferidas para el uso de un compuesto de la presente invención se seleccionan de glaucoma, glaucoma primario de ángulo abierto o OHT.

El término "aproximadamente" generalmente significa dentro del 20 %, más preferiblemente dentro del 10 %, y lo más preferiblemente aún dentro del 5 % de un valor o intervalo dado. Alternativamente, especialmente en los sistemas biológicos, el término "aproximadamente" significa dentro de aproximadamente un log (esto es, un orden de magnitud), preferiblemente dentro de un factor de dos de un valor dado.

Como se utiliza aquí, el término "gota" se refiere a una cantidad de fluido oftálmicamente aceptable que se asemeja a una gota de líquido. En una realización, una gota se refiere a un volumen de líquido equivalente a de aproximadamente 5 μ l a aproximadamente 200 μ l, por ejemplo, de aproximadamente 30 μ l a aproximadamente 80 μ l.

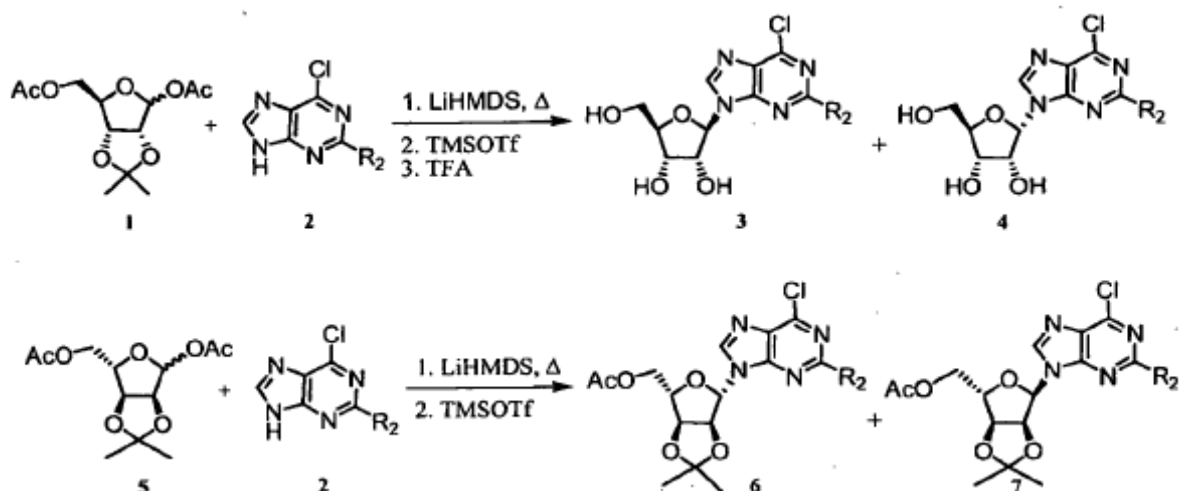
En esta memoria se utilizan las siguientes abreviaturas y tienen las definiciones indicadas: CCPA es 2-cloro-N6-ciclopentiladenosina; CPA es N6-ciclopentiladenosina; NECA es adenosina-5'-(N-etil)-carboxamido; NMR es resonancia magnética nuclear; R-PIA es N6-(2-fenil-isopropil)adenosina, R-isómero; OHT es OHT o POAG es glaucoma primario de ángulo abierto; HP β CD es hidroxipropil β -ciclodextrina.

Métodos de síntesis

Los compuestos según la fórmula I se pueden preparar mediante el uso de procedimientos sintéticos descritos en la patente de Estados Unidos 7.423.144, cuya descripción se incorpora aquí en su totalidad, así como otros métodos publicados (véase Cristalli et al., J. Med. Chem. 35: 2363-2369, 1992; Cristalli et al, J. Med. Chem. 37: 1720-1726, 1994; Cristalli et al, J. Med. Chem. 38: 1462-1472, 1995; y Camaioni et al., Bioorg Med Chem 5: 2267-2275, 1997), o mediante el uso de los procedimientos sintéticos descritos a continuación.

El esquema 1 muestra métodos para preparar intermedios de nucleósidos que son útiles para preparar el compuesto de la invención.

Esquema 1



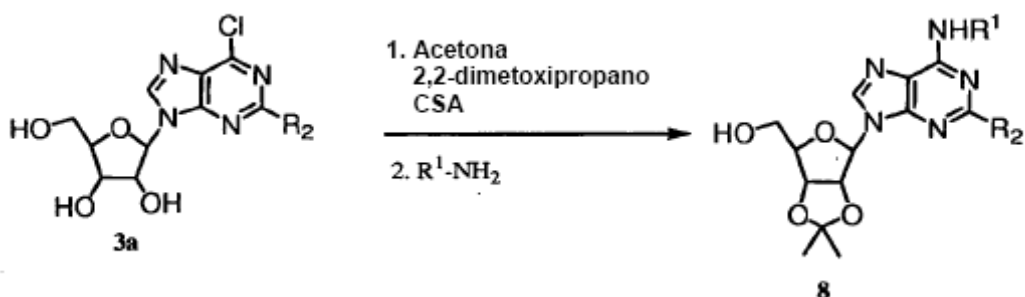
en donde R₂ es como se ha definido anteriormente.

El compuesto de ribosa protegido de la fórmula 1 se puede acoplar con un compuesto de purina de la fórmula 2 utilizando hexametildisilazida de litio y triflato de trimetilsililo, seguido por la eliminación del acetónido utilizando ácido trifluoroacético para proporcionar intermedios de nucleósidos de la fórmula 3, y sus otros anómeros

correspondientes de la fórmula 4. De manera similar, el diacetato de ribosa de la fórmula 5 se puede acoplar con un compuesto de la fórmula 2 utilizando hexametildisilazida de litio y triflato de trimetilsililo para proporcionar intermediarios de nucleósidos protegidos con acetónido de la fórmula 6 y sus otros anómeros correspondientes de la fórmula 7.

- 5 El esquema 2 muestra un método útil para preparar los productos intermedios de adenosina de la fórmula 8 que son útiles para preparar los compuestos de la invención.

Esquema 2

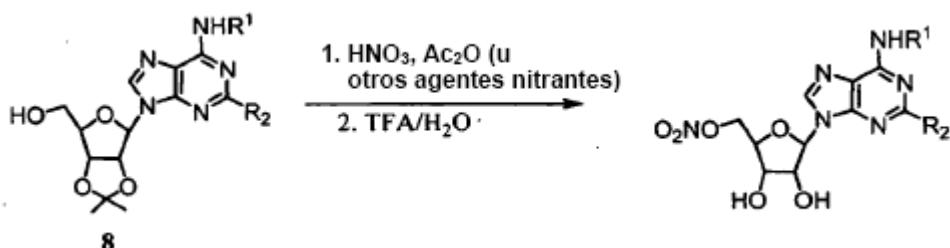


donde R^1 y R^2 se han definido antes.

- 10 El derivado de 6-cloroadenosina de la fórmula 3a se convierte en su 2',3'-acetónido utilizando acetona y 2,2-dimetoxipropano en presencia de ácido canforsulfónico. El acetónido se puede derivatizar adicionalmente utilizando una amina de la fórmula R^1-NH_2 en presencia de una base para proporcionar los compuestos de la fórmula 8.

La metodología útil para preparar otros compuestos de la invención se describe en el esquema 4.

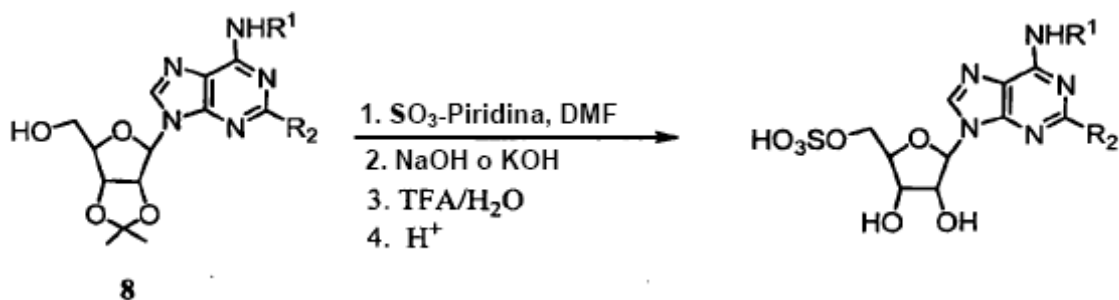
Esquema 4.



- 15 donde R^1 y R^2 se han definido antes.
- Los intermediarios de adenosina de la fórmula 8 se pueden convertir en sus análogos 5'-nitratado utilizando ácido nítrico en presencia de anhídrido acético, u otros agentes de nitración, tales como $MsCl/ONO_2$ o tetrafluoroborato de nitrosonio. La eliminación del acetónido utilizando TFA/agua proporciona los compuestos de la invención.

- 20 La metodología útil para preparar los derivados de purina de la fórmula (Id) en donde R^3 es $-CH_2OSO_3H$ se indica en el esquema 6.

Esquema 6.



donde R^1 y R^2 se han definido antes.

Los intermedios de adenosina de la fórmula 8 se pueden tratar con complejo de trióxido de azufre-piridina para proporcionar el correspondiente intermedio sal de piridina y ácido 5'-sulfónico. El intermedio de sal de piridina se puede neutralizar entonces utilizando NaOH o KOH, seguido por la eliminación del acetónido utilizando TFA/agua para proporcionar la correspondiente sal de sodio o potasio, respectivamente, de los derivados de purina de la fórmula (Id) en donde A es $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$. El tratamiento de la sal de sodio o de potasio con un ácido acuoso fuerte, tal como ácido sulfúrico o clorhídrico, proporciona compuestos de la invención en donde A es $-\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$.

Modos de administración

El compuesto A se puede incorporar a varios tipos de composiciones o formulaciones oftálmicas para administración. El compuesto A se puede administrar directamente al ojo (por ejemplo: gotas o pomadas oculares tópicos; dispositivos de liberación lenta tales como esponjas de administración de fármacos implantadas en el saco conjuntival o implantadas adyacentes a la esclerótica o dentro del ojo; inyecciones perioculares, conjuntivales, sub-tenon, intracamerales, intravítreas, o intracanaliculares) o sistémicamente (por ejemplo: por vía oral, inyecciones intravenosas, subcutáneas o intramusculares; parenteralmente, administración dérmica o nasal) utilizando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Se contempla además que los agentes de la invención se pueden formular en insertos intraoculares o dispositivos de implante.

El compuesto A se incorpora preferiblemente en formulaciones oftálmicas tópicas con un pH de aproximadamente 4-8 para administración al ojo. El compuesto se puede combinar con conservantes, tensioactivos, potenciadores de viscosidad, potenciadores de la penetración, tampones, cloruro de sodio y agua, oftalmológicamente aceptables, para formar una suspensión o solución oftálmica acuosa estéril. Las formulaciones de solución oftálmica se pueden preparar disolviendo un compuesto en un tampón acuoso isotónico fisiológicamente aceptable. Además, la solución oftálmica puede incluir un tensioactivo oftalmológicamente aceptable para ayudar a disolver el compuesto. Además, la solución oftálmica puede contener un agente para aumentar la viscosidad o la solubilidad, tal como hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, o similares, para mejorar la retención de la formulación en el saco conjuntival. Se pueden utilizar también agentes gelificantes, incluyendo, pero sin limitarse a gellan y goma xantano. Con el fin de preparar formulaciones de pomadas oftálmicas estériles, el ingrediente activo se puede combinar con un conservante en un vehículo apropiado tal como aceite mineral, lanolina líquida o vaselina blanca. Se pueden preparar formulaciones de gel oftálmico estéril suspendiendo el compuesto en una base hidrófila preparada a partir de la combinación, por ejemplo, de carbopol-974, o similares, según las formulaciones publicadas para preparaciones oftálmicas análogas; se pueden incorporar conservantes y agentes de tonicidad.

El compuesto A en las realizaciones preferidas está contenido en una composición en cantidades suficientes para reducir la IOP en pacientes que tienen IOP elevada y/o para mantener los niveles de IOP normales en pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto o con OHT. Tales cantidades se denominan aquí como "una cantidad eficaz para controlar o reducir la IOP", o más simplemente "una cantidad eficaz". Los compuestos estarán contenidos normalmente en estas formulaciones en una cantidad de 0,05 mg/mL a 7,0 mg/mL, pero preferiblemente en una cantidad de 0,4 a 7,0 mg/mL. Por lo tanto, para la presentación tópica, se administrarían 1 a 2 gotas de estas formulaciones a la superficie del ojo de 1 a 4 veces al día, a discreción de un médico experto.

El compuesto A se puede utilizar también en combinación con otros agentes de tratamiento de glaucoma, tales como, pero sin limitarse a ellos, los β -bloqueadores, análogos de prostaglandinas, inhibidores de anhidrasa carbónica, agonistas α_2 , mióticos y neuroprotectores antagonistas A3, agonistas A2A y combinaciones de los mismos.

Diseño de un estudio clínico utilizando compuestos de la fórmula I

El estudio clínico descrito en la presente memoria es un estudio de escalada de la dosis multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de una sola aplicación ocular tópica del fármaco de estudio (esto es, Compuesto A o placebo) a un ojo de estudio de adultos con OHT o con glaucoma primario de ángulo abierto. El "ojo de estudio" se definió como el ojo con la IOP media más alta, registrada entre las 7.00 y 8.00 AM el día antes de la dosificación (Día 0). Los criterios de inscripción de los sujetos incluyeron hombres y mujeres sin potencial de quedar embarazadas, de 18 a 75 años (inclusive), que firmaron el consentimiento informado, que habían sido diagnosticados de OHT o glaucoma primario de ángulo abierto, y que tenían un bajo riesgo de exacerbación aguda de la enfermedad de sus ojos mientras estén inscritos.

Los sujetos adultos fueron asignados secuencialmente a 1 de 7 grupos de tratamiento. Cada grupo de tratamiento incluía doce sujetos: 8 sujetos aleatorizados para recibir 2,5, 7,5, 20, 60, 180, 350 o 700 microgramos de compuesto A en el ojo de estudio y 4 aleatorizados para recibir el placebo emparejado (véase Tabla 1) el día 1.

Tabla 1. Esquema de aleatorización en el ensayo clínico

	Ojo de estudio	Ojo no de estudio
Activo (8 por grupo de tratamiento)	Fármaco activo (2,5-700 µg)	Sin tratamiento
Placebo (4 por grupo de tratamiento)	Placebo emparejado	Sin tratamiento

Se determinaron por duplicado las presiones intraoculares enmascaradas con un tonómetro Goldmann después de la anestesia corneal tradicional. Después de la determinación de las medidas de la IOP bilateral de la línea base (predosis) en la mañana del Día 1, se instiló el fármaco de estudio asignado (Compuesto A o placebo emparejado) como una única gota de 50 µL a un ojo de estudio solamente. Se realizaron a continuación exámenes oculares bilaterales externos y determinaciones de la IOP enmascarada a las 9:00 AM, 10:00 AM, 12:00 del mediodía y 2:00 PM (cada hora $\pm$ 5 minutos), lo que corresponde a 1, 2, 4 y 6 horas después de la aplicación del fármaco de estudio. Además en la cohorte de 700 mcg se realizó una determinación de la IOP a las 6:00 PM (18:00), que corresponde a las 10 horas después de la aplicación del fármaco de estudio.

10 Dosis/forma farmacéutica, vía, y régimen de administración

Se aplicó a los sujetos el fármaco de estudio mediante un cuentagotas al saco conjuntival inferior del ojo de estudio. El fármaco de estudio se administró sólo a un ojo por sujeto (el ojo de estudio). Las dosis variaron de 2,5 microgramos a 350 microgramos por gota de 50 microlitros, por grupo de tratamiento respectivo. Un oftalmólogo certificado por la Dirección (o la persona designada entrenada de modo comparable) administró el fármaco de estudio. La distribución aleatorizada de los sujetos en cada uno de los grupos de tratamiento sucesivos se basó en la revisión y aprobación de los datos de seguridad de los grupos de tratamiento completados por el Comité de Investigación de Seguridad, compuesto por tres médicos calificados (esto es, un internista, un cardiólogo, y un oftalmólogo).

Ejemplo de formulación

20 La formulación tiene 1 mg de Compuesto A por cada 20 mg de hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) (esto es, 1:20 peso/peso) reconstituido con solución salina para inyección USP al 0,9 %, a las concentraciones indicadas a continuación.

Dosis Clínica (mcg/ojo)	Compuesto A (mg/mL)	Dosis ocular Volumen (µL)
2,5	0,05	50
7,5	0,15	50
20	0,40	50
60	1,2	50
180	3,6	50
350	7,0	50
700	7,0	2 x 50

Resultados del ensayo clínico

25 Los resultados del ensayo clínico se presentan en las figuras y adicionalmente como se describen a continuación.

El esquema de escalada de la dosis en los 7 grupos de tratamiento del estudio clínico multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, se muestra en la Figura 1. Se asignaron doce sujetos aleatoriamente a cada grupo de tratamiento: 8 sujetos recibieron compuesto A y 4 sujetos recibieron placebo. La escalada para cada grupo de tratamiento sucesivo se basó en la aprobación del Comité de Revisión de Seguridad de los datos de seguridad de la cohorte completada más recientemente.

30

La media y la mediana de la IOP (mm Hg) en el ojo de estudio en cada punto de tiempo a lo largo de todos los grupos de tratamiento se muestran en las figuras 2a y 2b, respectivamente. El cambio de la media absoluta y mediana absoluta de la IOP desde la IOP (mm Hg) predosis en el ojo de estudio a lo largo de todos los grupos de tratamiento en cada punto de tiempo se muestran en las figuras. 3a y 3b.

5 La Figura 4a presenta un gráfico resumen del análisis de respondedores en los 7 grupos de tratamiento a las 10:00 AM. En los sujetos humanos tratados con dosis oculares tópicas de Compuesto A, aproximadamente a las 2 horas postdosis (aproximadamente 10:00 AM), es evidente la mayor diferencia en la IOP entre los ojos tratados con fármaco y los tratados con placebo. La evaluación clínica de la IOP 2 horas postdosis es especialmente relevante para detectar la presencia de un efecto en pacientes humanos con glaucoma /OHT con significación estadística.

10 La Figura 4b presenta un gráfico resumen de los análisis de respondedores en los 7 grupos de tratamiento utilizando la media de la tasa de respondedores durante un período de observación de 6 horas postdosis. Para obtener la tasa de respuesta, se hizo el promedio del porcentaje de reducción de la IOP para cada sujeto, en cada uno de los 3 puntos de tiempo postdosis. La media de este porcentaje se utilizó para determinar la tasa de respondedores.

15 La Figura 5 presenta la media y la mediana del % de reducción desde la línea base (BL; predosis) y el análisis categórico de respondedores de la cohorte de 350 mcg durante todo el período de observación postdosis.

Las cifras presentadas en las figuras 6 y 8 demuestran la reducción estadísticamente significativa en la media y la mediana de las IOP (a partir de las determinaciones de la IOP de la línea base predosis) observada en las cohortes de 350 y 700 mcg con respecto a la respuesta al placebo.

20 La Figura 7 presenta la media y la mediana del % de reducción desde la línea base (BL; predosis) y el análisis categórico de respondedores de la cohorte de 700 mcg durante el período de observación postdosis.

Resumen de la eficacia del Compuesto A

Se encontró que el Compuesto A induce una reducción de la IOP desde la línea base Día 1 predosis, que fue:

1. Reducción de la IOP, relacionada con la dosis

- 25 a. Se observó una tendencia en la media y la mediana de la reducción de la IOP y del porcentaje de cambio desde la línea base, especialmente en el punto de tiempo de 2 horas postdosis. Las mayores reducciones de la media y la mediana de la IOP se encontraron con la dosis de 350 mcg.
- 30 b. El análisis de respondedores mostró una dosis-respuesta al Compuesto A en los números de sujetos que alcanzaron reducciones de la media categórica desde la línea base de la IOP de $\geq 10\%$, $\geq 15\%$ o $\geq 20\%$, durante todo el período de observación (~6 horas). El % de sujetos que alcanzaron la mayor reducción de la IOP (análisis de respondedores) se encontraba en el grupo de tratamiento de 350 mcg.

2. Estadísticamente significativo con respecto al placebo

- a. Se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la respuesta al placebo en los grupos de tratamiento de 350 mcg y 700 mcg en el punto de tiempo de 2 horas postdosis.

35 3. En el grupo de tratamiento de 350 mcg, se encontró que la reducción de la IOP duraba todo el período de observación (~6 horas).

Ejemplos de síntesis

2',3'-Isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina: Se calentó a reflujo durante 6 horas una solución de 6-cloroadenosina (2,58 g) y ciclohexilamina (5 g) en etanol (20 mL) y después se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo resultante se diluyó con agua (50 mL) y acetato de etilo (300 mL). Se separó la capa orgánica y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con agua (1 x 30 mL), se secaron sobre sulfato de sodio, se concentraron a vacío y se secaron a vacío para dar N⁶-ciclohexiladenosina como un sólido blanco (2,600 g). Se diluyó la N⁶-ciclohexiladenosina (2,6 g) con acetona (30 mL) y se añadió a la solución resultante 2,2-dimetoxipropano (12 mL), seguido de ácido D-canforsulfónico (3,01 g) y se dejó agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 18 horas. Se concentró a vacío la mezcla de reacción y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo (150 mL), después se neutralizó a pH 8,0 utilizando NaHCO₃ acuoso saturado. Se separó la capa orgánica, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a vacío. Se purificó el residuo dos veces en columna de gel de sílice utilizando MeOH-CH₂Cl₂ (4:96) como eluyente para dar 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina (3,16 g). ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,23-1,47 (m, 9H), 1,38 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,79-1,81 (m, 1H), 2,4-2,6 (m, 1H), 3,80 (d, J = 12 Hz, 1H), 3,96 (d, J = 12 Hz, 1H), 4,53 (s, 1H), 5,9-5,16 (m, 2H), 5,80-5,92 (m, 2H), 7,79 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,22-8,38 (m, 1H).

N⁶-Ciclohexiladenosina-5'-O-nitrato (Compuesto E): Se añadió lentamente anhídrido acético (6 mL) a una solución en agitación de ácido nítrico (2 g, 63 %) a -25 °C (baño de CCl₄-CO₂ utilizado para la refrigeración) y se mantuvo la temperatura de reacción de -7,5 a 0 °C durante 1 h más. Se añadió lentamente una solución de 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina (1,0 g) en anhídrido acético (3 mL). La reacción resultante se dejó en agitación de 0 a -5 °C durante 2 horas y la mezcla se vertió lentamente sobre una solución enfriada con hielo de NaHCO₃ acuoso (40 mL) y acetato de etilo (150 mL) y se dejó en agitación durante 5 minutos. Se separó la capa orgánica y se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró a vacío. El residuo se diluyó con una mezcla de TFA (16 mL) y agua (4 mL) y se dejó la mezcla en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla a vacío y el residuo resultante se diluyó con agua (10 mL) y se concentró a vacío. El residuo obtenido se diluyó con acetato de etilo y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado, y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. Se purificó el residuo en columna de gel de sílice utilizando acetato de etilo-hexano (gradiente de 40:60 a 20:80) para dar N⁶-ciclohexiladenosina-5'-O-nitrato (0,150 g). ¹H-NMR (DMSO-D₆): δ 1,08-1,13 (m, 1H), 1,27-1,41 (m, 4H), 1,57-1,83 (m, 6H), 4,12-4,17 (m, 2H), 4,30-4,33 (m, 1H), 5,48 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,60 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,90 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,59 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,29 (s, 1H).

N⁶-(exo-2-Norbornil)adenosina-5'-O-nitrato (Compuesto F): Se preparó 2',3'-isopropiliden-N⁶-exo-norborniladenosina siguiendo el procedimiento de 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina y se utilizó para la siguiente reacción. Se añadió lentamente anhídrido acético (6 mL) a una solución en agitación de ácido nítrico (2 g, 63 %) a -25 °C (baño de CCl₄-CO₂ utilizado para la refrigeración) y se mantuvo la temperatura de reacción de -7,5 a 0 °C durante 1 h más. Se añadió lentamente una solución de 2',3'-isopropiliden-N⁶-exo-norborniladenosina (1,2 g) en anhídrido acético (3 mL). Se dejó la mezcla en agitación de 0 a -5 °C durante 40 minutos y se vertió la mezcla lentamente sobre una solución enfriada con hielo de NaHCO₃ acuoso (40 mL). La solución se extrajo con diclorometano. Se separó la capa orgánica y se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró a vacío. Se purificó el residuo en una columna de gel de sílice utilizando acetato de etilo-hexano (1:1) para dar el producto deseado (0,245 g) y el compuesto de partida (1,0 g). El producto nitrato (0,245 g) se diluyó en una mezcla de TFA (15 mL) y agua (5 mL) y la mezcla se dejó en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se concentró a vacío y se diluyó con agua (10 mL) y se concentró a vacío. El residuo resultante se diluyó con acetato de etilo y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. Se recrystalizó el residuo en la mezcla de acetato de etilo y hexano para dar N⁶-exo-2-norborniladenosina-5'-O-nitrato (0,123 g). ¹H NMR (DMSO-D₆): δ 1,03-1,21 (m, 3H), 1,40-1,56 (m, 3H), 1,58-1,64 (m, 4H), 3,94 (bs, 1H), 4,13 a 4,17 (m, 1H), 4,30 (bs, 1H), 4,66-4,87 (m, 3H), 5,49 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,62 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,31 (s, 1H).

2-Cloro-N⁶-ciclohexiladenosina: Se calentó a reflujo una mezcla de 2,6-dicloroadenosina (1,0 g) y ciclohexilamina (0,926 g) en etanol (30 mL) durante 6 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla a vacío. Se purificó el residuo en columna de gel de sílice utilizando MeOH-CH₂Cl₂ (1:6 a 1:5). Se concentraron las fracciones reunidas y se secaron a vacío para dar 2-cloro-N⁶-ciclohexiladenosina como un sólido blanco (2,600 g). ¹H NMR (DMSO-D₆): δ 1,12-1,21 (m, 2H), 1,33-1,43 (m, 3H), 1,63-1,86 (m, 6H), 3,57-3,62 (m, 1H), 3,66-3,69 (m, 1H), 3,97 (d, J = 3 Hz, 1H), 4,16 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 4,54 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,8-5,11 (m, 1H), 5,24 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 5,51 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,85 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 8,26 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,41 (s, 1H).

2-Cloro-2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina: Se diluyó 2-cloro-N⁶-ciclohexiladenosina (0,5 g) con acetona (30 mL) y se añadió a la mezcla 2,2-dimetoxipropano (2,04 g), seguido por ácido D-canforsulfónico (CSA, 0,272 g). La mezcla de reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió CSA adicional (0,2 g) y se agitó durante 2 horas. Se concentró la mezcla a vacío y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo, después se neutralizó a pH 8,0 utilizando NaHCO₃ acuoso concentrado. Se separó la capa orgánica, se secó sobre sulfato de sodio, se concentró a vacío para dar 2-cloro-2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina (0,378 g). ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,23-1,30 (m, 3H), 1,36-1,44 (m, 1H), 1,63 (s, 3H), 1,68-1,79 (m, 5H), 2,04-2,08 (m, 2H), 3,81 (d, J = 5 Hz, 1H), 3,99 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 4,51 (s, 1H), 5,11 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,15-5,18 (m, 1H), 5,75 (bs, 1H), 5,78 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 5,96 (bs, 1H), 7,76 (s, 1H).

2-Cloro-N⁶-ciclohexiladenosina-5'-O-sulfato de sodio (Compuesto G): Se disolvió 2-cloro-2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina (0,540 g) en DMF (6 mL) y se añadió lentamente a la solución de trióxido de azufre (0,302 g) en DMF (3 mL). Se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente. Se concentró en rotavapor y el residuo se diluyó con agua (8 mL). La solución acuosa se neutralizó lentamente con NaOH (0,1 N) hasta pH 7,0. Se extrajo con acetato de etilo y después se concentró la capa acuosa. El sólido blanco obtenido se utilizó tal cual para la siguiente etapa. La sal de sulfato de sodio protegida se trató con la mezcla de TFA-agua (16:4 mL) y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se cristalizó en acetona para dar 2-cloro-N⁶-ciclohexiladenosina-5'-O-sulfato de sodio (0,150 g). ¹H NMR (DMSO-D₆): δ 1,10-1,13 (m, 1H), 1,25-1,41 (m, 4H), 1,57-1,83 (m, 6H), 3,72-4,08 (m, 4H), 4,47 (s, 1H), 5,81 (s, 1H), 8,14 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 8,43 (s, 1H).

2-Cloro-N⁶-ciclohexiladenosina-5'-O-nitrato (Compuesto H): Después de las reacciones de nitración y de desprotección con agua y TFA, se preparó 2-cloro-N⁶-ciclohexiladenosina-5'-O-nitrato a partir de 2-cloro-2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclohexiladenosina. ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,06-1,42 (m, 4H), 1,64-1,88 (m, 5H), 4,08 (bs, 1H), 4,21 (s,

1H), 4,30 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 4,41 (s, 1H), 4,83-4,88 (m, 2H), 5,57 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,70 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 5,90 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 8,26 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 8,38 (s, 1H).

Síntesis del Compuesto A

5 N⁶-Ciclopentiladenosina: Se calentó a reflujo durante 3 horas una solución de 6-cloroadenosina (43 g) y ciclopentilamina (5 equivalentes) en etanol (50 equivalentes) y después se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se concentró a vacío y el residuo resultante se diluyó con agua (400 mL) y acetato de etilo (400 mL). Se separó la capa orgánica y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 400 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con agua (2 x 200 mL), se secaron sobre sulfato sódico, se concentraron a vacío y se secaron a vacío para dar un sólido que se suspendió en MeOH (400 mL), se filtró y se secó para obtener la N⁶-ciclopentiladenosina (43,8 g).

15 2',3'-Isopropiliden-N⁶-ciclopentiladenosina: Se diluyó N⁶-ciclopentiladenosina (43 g) con acetona (75 equivalentes) y se añadió a la solución resultante 2,2-dimetoxipropano (5 equivalentes), seguido de ácido D-canforsulfónico (1 equivalente) y la reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró a vacío y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo, después se neutralizó a pH 7,0 utilizando NaHCO₃ acuoso concentrado. Se separó la capa orgánica, se secó sobre sulfato de sodio, se concentró a vacío y se secó a vacío para dar un sólido que se suspendió en hexano (250 mL), se filtró, se lavó con hexano y se secó a vacío para dar 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclopentiladenosina (43 g).

20 2',3'-Isopropiliden-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato: Se añadió lentamente anhídrido acético (22 equivalentes) a una solución en agitación de ácido nítrico (5 equivalentes, 63 %) a -10 °C. (baño de acetonitrilo-CO₂ utilizado para refrigeración) durante un período de 4 horas con la temperatura de reacción mantenida de -5 a 5 °C durante la adición. La solución resultante se enfrió a -20 °C y se añadió lentamente una solución de 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclopentiladenosina (18,250 g, 0,048 mol) en anhídrido acético (37 mL, 8 equivalentes). La reacción resultante se dejó en agitación de -15 a -5 °C durante 1 hora y la mezcla de reacción resultante se vertió lentamente sobre una solución enfriada con hielo de NaHCO₃ acuoso (168 g en 800 mL de agua) y acetato de etilo (350 mL) y la solución resultante se dejó en agitación durante 5 minutos. Se separó la capa orgánica y la capa acuosa se extrajo utilizando acetato de etilo (350 mL). Las capas orgánicas reunidas se lavaron con agua, y se secaron sobre sulfato de sodio, se concentraron a vacío y se purificaron utilizando cromatografía rápida en columna de gel de sílice utilizando acetato de etilo-hexano al 70 % como eluyente para dar 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato (14,9 g).

30 Compuesto A: Se diluyó 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato (4,8 g) con una mezcla de TFA (20 mL) y agua (5 mL) y la reacción resultante se dejó en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se concentró a vacío y el residuo resultante se diluyó con agua (10 mL) y se concentró a vacío. El residuo resultante se diluyó con acetato de etilo y se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado, y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío para dar un residuo sólido blanco que se secó a vacío y después se recrystalizó en etanol frío para dar el Compuesto A (3,1 g). ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 1,49-1,58 (m, 4H), 1,66-1,72 (m, 2H), 1,89-1,94 (m, 2H), 4,12-4,17 (m, 1H), 4,28-4,33 (m, 1H), 4,48 (bs, 1H), 4,65-4,87 (m, 3H), 5,5 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 5,63 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 8,17 (bs, 1H), 8,30 (s, 1H); MS (ES⁺): m/z 381,35 (M + 1); Análisis: Calculado para C₁₅H₂₀N₆O₆: C, 47,37; H, 5,30; N, 22,10. Encontrado: C, 47,49; H, 5,12; N, 21,96.

40 Síntesis del Compuesto B

45 2-Cloro-N⁶-ciclopentiladenosina-2',3',5'-triacetoxi-2,6-dicloroadenosina (1,5 g) y ciclopentilamina (8 equivalentes) se diluyeron con etanol (50 equivalentes), y la solución resultante se calentó a reflujo durante aproximadamente 15 horas, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a vacío para dar un residuo crudo que se diluyó con una mezcla de acetato de etilo y agua y se transfirió a un embudo de separación. Se separó la capa orgánica, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío para dar un residuo crudo que se purificó utilizando cromatografía rápida en columna sobre gel de sílice (MeOH al 8 %-diclorometano como eluyente) para dar 2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (0,948 g). MS m/z 370,32 [M + H]⁺.

50 2',3'-Isopropiliden-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina: Se diluyeron 2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (900 mg, preparada en la etapa anterior) y 2,2-dimetoxipropano (10 equivalentes) con acetona (15 mL) y a la solución resultante se añadió ácido D-canforsulfónico (1 equivalente) y la reacción resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción resultante se concentró a vacío, se diluyó con una mezcla de NaHCO₃ acuoso saturado y acetato de etilo, y se transfirió a un embudo de separación. Se separó la capa orgánica, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío para dar un residuo crudo que se purificó utilizando cromatografía rápida en columna sobre gel de sílice (utilizando MeOH al 5 %-diclorometano como eluyente) para dar 2',3'-isopropiliden-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (0,905 g). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,36 (s, 3H), 1,62 (s, 3H), 1,66-2,16 (m, 9H), 3,78 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 3,98 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 4,51 (bs, 1H), 4,55-4,60 (m, 1H), 5,09-5,17 (m, 2H), 5,81 (bs, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,89 (s, 1H).

2',3'-Isopropiliden-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato: Se añadió lentamente una solución de ácido nítrico (2,0 mL, 60 %) durante un período de 30 minutos a anhídrido acético (16,0 mL) de -10 a 10 °C (utilizando un baño de enfriamiento de acetonitrilo-CO₂) y la mezcla de reacción se dejó en agitación de -10 a 10 °C durante 10 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a -30 °C y después se añadió lentamente una solución de 2',3'-isopropiliden-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina (655 mg, 0,0016 mol, preparada en la etapa anterior) en anhídrido acético (8,0 mL). Cuando se hubo completado la adición, la reacción resultante se dejó calentar a -5 °C y se le hizo seguimiento utilizando TLC (solvente MeOH al 5 %-CH₂Cl₂ o EtOAc al 70 %-hexano). Cuando se hubo completado la reacción, la mezcla de reacción se vertió lentamente en una mezcla con hielo frío de NaHCO₃ acuoso saturado (300 equivalentes en 75 mL de agua) y acetato de etilo (60 mL). Se separó la capa orgánica y la capa acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo. Las capas orgánicas reunidas se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato de sodio, y se concentraron a vacío para dar un residuo crudo. El residuo crudo se purificó utilizando columna rápida (metanol al 5 %-diclorometano como eluyente) para dar 2',3'-isopropiliden-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato (0,435 g). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,38 (s, 3H), 1,59 (s, 3H), 1,66-2,13 (m, 9H), 4,50-4,55 (m, 1H), 4,71-4,83 (m, 2H), 5,14-5,17 (m, 1H), 5,31 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 6,04 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,81 (s, 1H). MS m/z 455,44 [M + H]⁺.

Compuesto B: 2',3'-Isopropiliden-2-cloro-N⁶-ciclopentiladenosina-5'-nitrato (0,435 g, preparado en la etapa anterior) se diluyó con TFA (20 mL) y agua (5 mL) y la solución resultante se dejó en agitación durante 30 minutos. La mezcla de reacción resultante se concentró a vacío y el residuo resultante se diluyó con agua (10 mL) y la solución resultante se concentró a vacío. El residuo crudo obtenido se diluyó con acetato de etilo, se transfirió a un embudo de separación, se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. El residuo crudo obtenido se purificó utilizando cromatografía rápida en columna sobre gel de sílice (utilizando metanol al 10 %-diclorometano como eluyente) para dar el Compuesto 16 (0,250 g). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 1,52-1,95 (m, 9H), 4,13-4,24 (m, 2H), 4,55-4,58 (m, 1H), 4,73-4,85 (m, 2H), 5,50 (bs, 1H), 5,61 (bs, 1H), 5,84 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 8,33 (bs, 2H). MS m/z 414,85 [M + H]⁺.

Síntesis del Compuesto C (sal de sodio)

Una mezcla de 2',3'-isopropiliden-N⁶-ciclopentiladenosina (1 g, 0,0026 mol, preparada como se indica en el Ejemplo 1) y complejo de trióxido de azufre-piridina (0,0039 mol) en DMF (17 mL) se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 18 horas. La DMF se separó a vacío y el residuo resultante se secó a vacío. El residuo seco se diluyó con agua (25 mL), se neutralizó a pH 7,0 utilizando NaOH (1 N) y se concentró a vacío para dar un residuo crudo que se diluyó con una solución de TFA (solución al 80 % en agua, 50 mL). La solución resultante se dejó en agitación a 25 °C durante 30 minutos y la mezcla de reacción se concentró a vacío para dar un residuo crudo que se diluyó con agua (10 mL) y se concentró a vacío. El compuesto crudo obtenido se recrystalizó a partir de acetona-agua para dar el compuesto C (sal de sodio) (805 mg). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): 1,53-1,96 (m, 9H), 3,78-4,10 (m, 4H), 4,43-4,54 (m, 2H), 5,90 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,46 (s, 1H). MS m/z 416,20 [M + H]⁺.

Ejemplo - Estudios de unión

Cultivo celular y preparación de membrana

Se cultivan células CHO transfectadas de forma estable con el receptor humano de adenosina A₁ y se mantienen en medio Eagles modificado por Dulbecco con mezcla de nutrientes F12 (DMEM/F12) sin nucleósidos, que contiene 10 % de suero de ternera fetal, penicilina (100 U/mL), estreptomycin (100 µg/mL), L-glutamina (2 mM) y geneticina (G-418, 0,2 mg/mL; A_{2B}, 0,5 mg/mL) a 37 °C en 5 % de CO₂/95 % de aire. Las células se dividen entonces 2 o 3 veces a la semana en una proporción entre 1: 5 y 1:20.

Las membranas para experimentos de unión de radioligando se preparan a partir de células frescas o congeladas como se describe en Klotz et al., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 357: 1-9 (1998). La suspensión de células se homogeneiza entonces en tampón hipotónico enfriado con hielo (Tris/HCl 5 mM, EDTA 2 mM, pH 7,4) y el homogeneizado se centrifuga durante 10 minutos (4 °C) a 1000 g. Las membranas se sedimentan entonces a partir del sobrenadante durante 30 minutos a 100.000 g y se resuspenden en tampón Tris/HCl 50 mM de pH 7,4 (para receptores de adenosina A₃: Tris/HCl 50 mM, MgCl₂ 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,25), se congelan en nitrógeno líquido a una concentración de proteína de 1-3 mg/mL y se conservan a -80 °C.

Estudios de unión al receptor de adenosina

Las afinidades de los compuestos de purina seleccionados para el receptor de adenosina A₁ se pueden determinar midiendo el desplazamiento de la unión específica de [³H]2-cloro-N⁶-ciclopentil-adenosina en células CHO transfectadas establemente con receptor recombinante humano de adenosina A₁ expresado como Ki (nM).

Las constantes de disociación de compuestos no marcados (valores Ki) se determinan en experimentos de competición en microplacas de 96 pocillos utilizando el agonista selectivo de A₁ 2-cloro-N⁶-[³H]ciclopentiladenosina ([³H]CCPA, 1 nM) para la caracterización de la unión al receptor A₁. La unión no específica se determina en presencia de R-PIA 100 mM y teofilina 1 mM, respectivamente. Para más detalles véase Klotz et al., Naunyn-

Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 357: 1-9, 1998. Los datos de unión se pueden calcular mediante el ajuste de la curva no lineal utilizando el programa SCTFIT (De Lean et al. Mol. Pharm. 1982, 21:5-16).

Caracterización funcional

- 5 La inhibición mediada por los receptores A_1 y A_3 de la actividad de adenilil-ciclasa estimulada por forskolina se analizó en membranas preparadas a partir de células CHO transfectadas de forma estable con los receptores humanos de adenosina A_1 y A_3 . La estimulación mediada por los receptores A_{2a} y A_{2b} de la actividad de la ciclasa basal se analizó en membranas preparadas a partir de células CHO transfectadas de forma estable con los receptores humanos de adenosina A_{2a} y A_3 .

Inhibición de adenilil-ciclasa a través de los receptores humanos de adenosina A_1 y A_3

	A_1 (EC ₅₀ nM)	A_3 (EC ₅₀ nM)
Compuesto A	17	>100.000
Compuesto B	20	>100.000
Compuesto E	29	>100.000
Compuesto G	19	>100.000

10

La presente invención y sus realizaciones se han descrito en detalle.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para uso en el tratamiento de la presión intraocular elevada, glaucoma, hipertensión ocular o glaucoma primario de ángulo abierto en un ser humano, en donde el compuesto es ((2R,3S,4R,5R)-5-(6-(ciclopentilamino)-9H-purin-9-il)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)-metil-nitrato.
- 5 2. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra a un ojo afectado en una dosis de:
 - (i) de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 7,0 mg/mL del compuesto de 1 a 4 veces al día, o
 - (ii) de aproximadamente 20 a aproximadamente 700 µg del compuesto de 1 a 2 veces al día, o
 - (iii) aproximadamente 350 µg del compuesto de 1 a 2 veces al día.
- 10 3. El compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde el compuesto se administra en gotas, preferiblemente en dosis de 1 o 2 gotas.
4. El compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la administración del compuesto reduce la IOP del ojo afectado al menos un 10 %, o al menos 10-20 %, o un 20 % o más.
- 15 5. El compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la administración del compuesto reduce la IOP del ojo afectado al menos un 10 % durante más de 3 horas, o al menos 10-20 % durante más de 3 horas, o un 20 % o más durante más de 3 horas o al menos un 10 % durante al menos 6 horas.
6. El compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde se administra un segundo agente reductor de la IOP, antes de, simultáneamente con, o secuencial al compuesto.
- 20 7. El compuesto para uso de la reivindicación 6, en donde el segundo agente reductor de la IOP se selecciona del grupo que consiste en β-bloqueadores, análogos de prostaglandinas, inhibidores de la anhidrasa carbónica, inhibidores de la rho-cinasa, agonistas α2, mióticos, neuroprotectores, antagonistas de A₃, agonistas de A_{2A}, moduladores de canales de iones y combinaciones de los mismos.
8. El compuesto para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el compuesto es para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en glaucoma de presión normal, hipertensión ocular, y glaucoma primario de ángulo abierto.
- 25 9. Una composición farmacéutica oftálmica para uso en el tratamiento de la presión intraocular elevada, glaucoma, hipertensión ocular, o glaucoma primario de ángulo abierto, que comprende un compuesto como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
10. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 9, en donde dicha composición comprende:
 - 30 (i) de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 7 mg/mL de dicho compuesto, o
 - (ii) de aproximadamente 0,4 mg/mL a aproximadamente 7 mg/mL de dicho compuesto
11. La composición farmacéutica para uso según la reivindicación 9, que es una formulación oftálmica tópica para reducir la presión intraocular que comprende de aproximadamente 0,05 mg/mL a aproximadamente 7 mg/mL del compuesto definido en la reivindicación 1 y de 1 mg/mL a aproximadamente 140 mg/mL de hidroxipropil β-ciclodextrina en solución salina para inyección.
- 35 12. La composición farmacéutica para uso según la reivindicación 11, que comprende 7 mg/mL del compuesto definido en la reivindicación 1.
13. La composición farmacéutica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en donde la composición farmacéutica es para uso en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en glaucoma de presión normal, hipertensión ocular, y glaucoma primario de ángulo abierto.
- 40

Figura 1

Compuesto A
Estudio de escalada de dosis
glaucoma/HTO

SCR = Comité Revisión Seguridad
-7 grupos de tratamiento
-12 sujetos por grupo de tratamiento
- 8 activo + 4 placebo emparejado

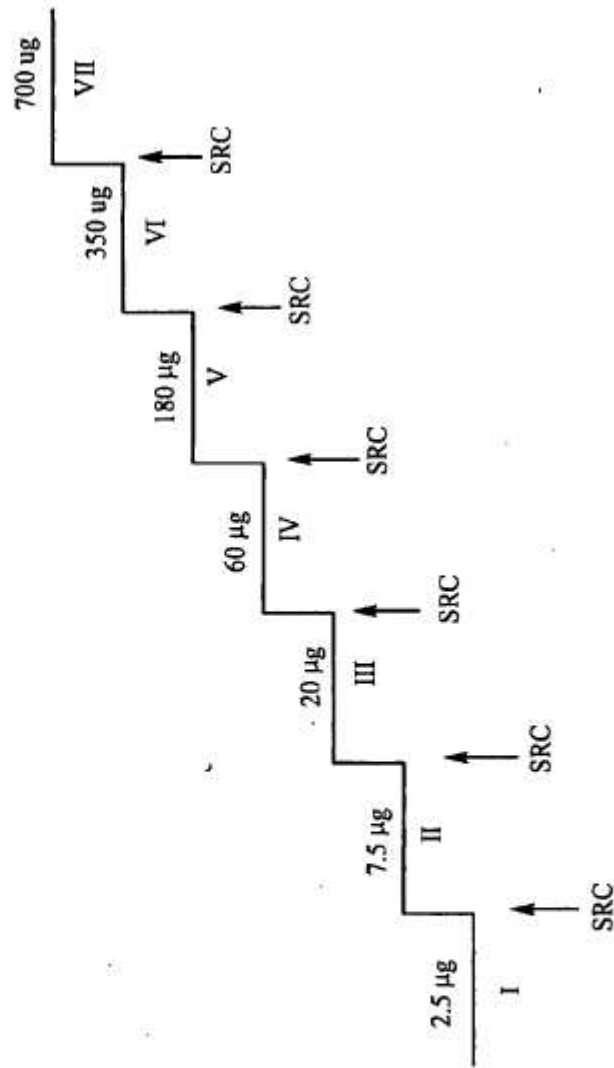


Figura 2a

Compuesto A Inotek
Media de la PIO – Ojo de estudio
Cohortes 1-7: Estudio clínico de HTO/GPAA

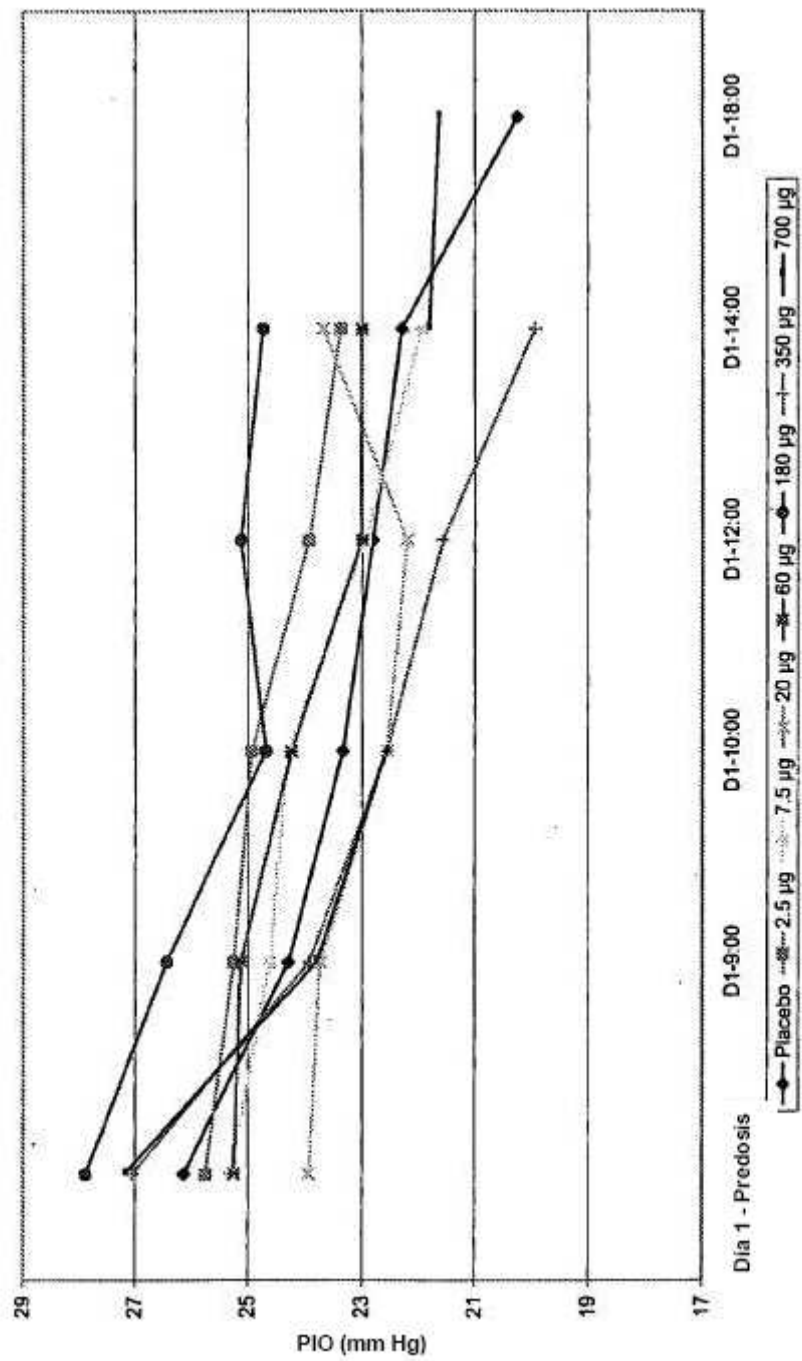


Figura 2b

Compuesto A Inotek
Media de la PIO – Ojo de estudio
Cohortes 1-7: Estudio clínico de HTO/GPAA

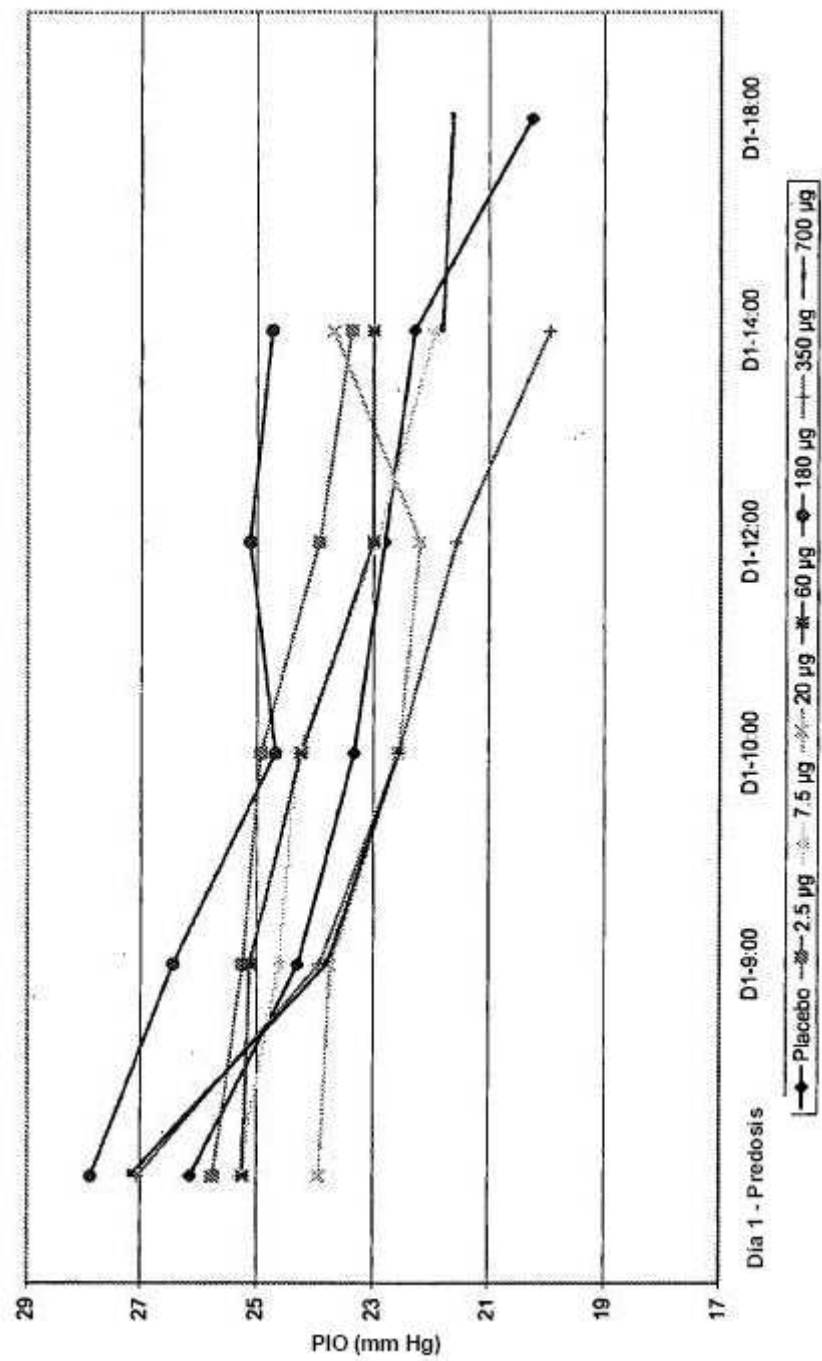


Figura 3a

Compuesto A Inotek
Media absoluta de cambio desde predosis – PIO del ojo de estudio
Cohortes 1-7: Estudio clínico de HTO/GPAA

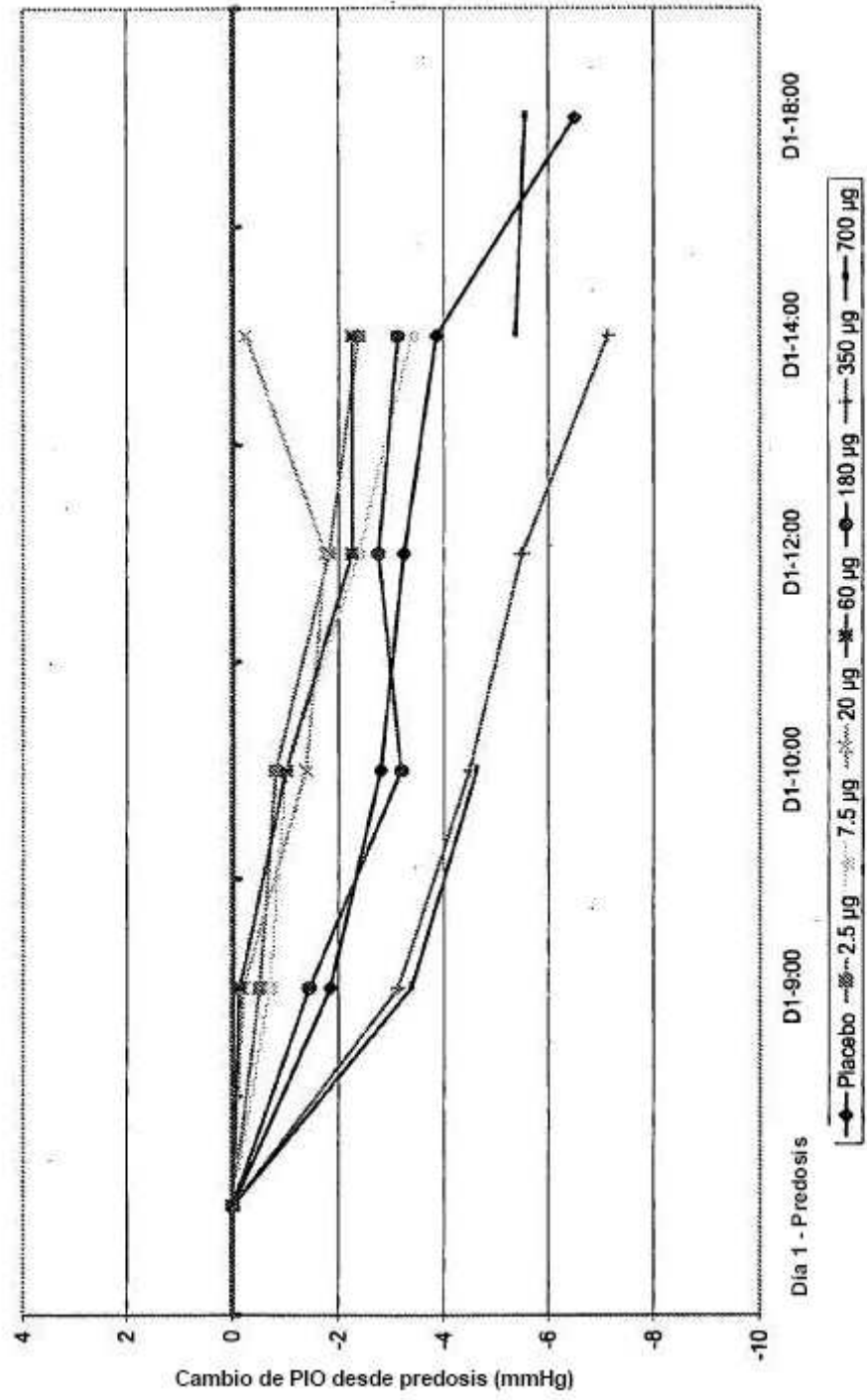


Figura 3b

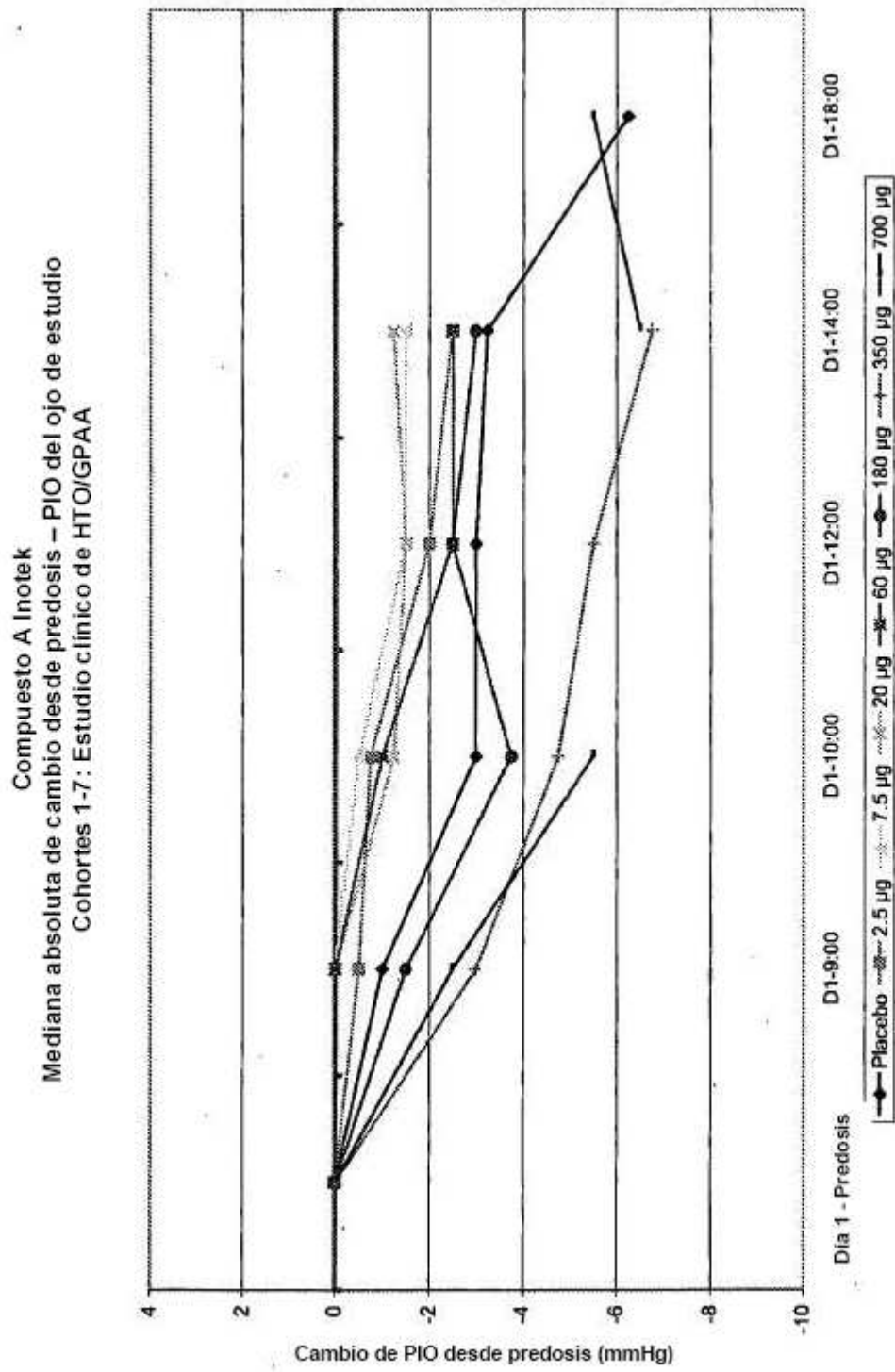


Figura 4a. Análisis de respondedores

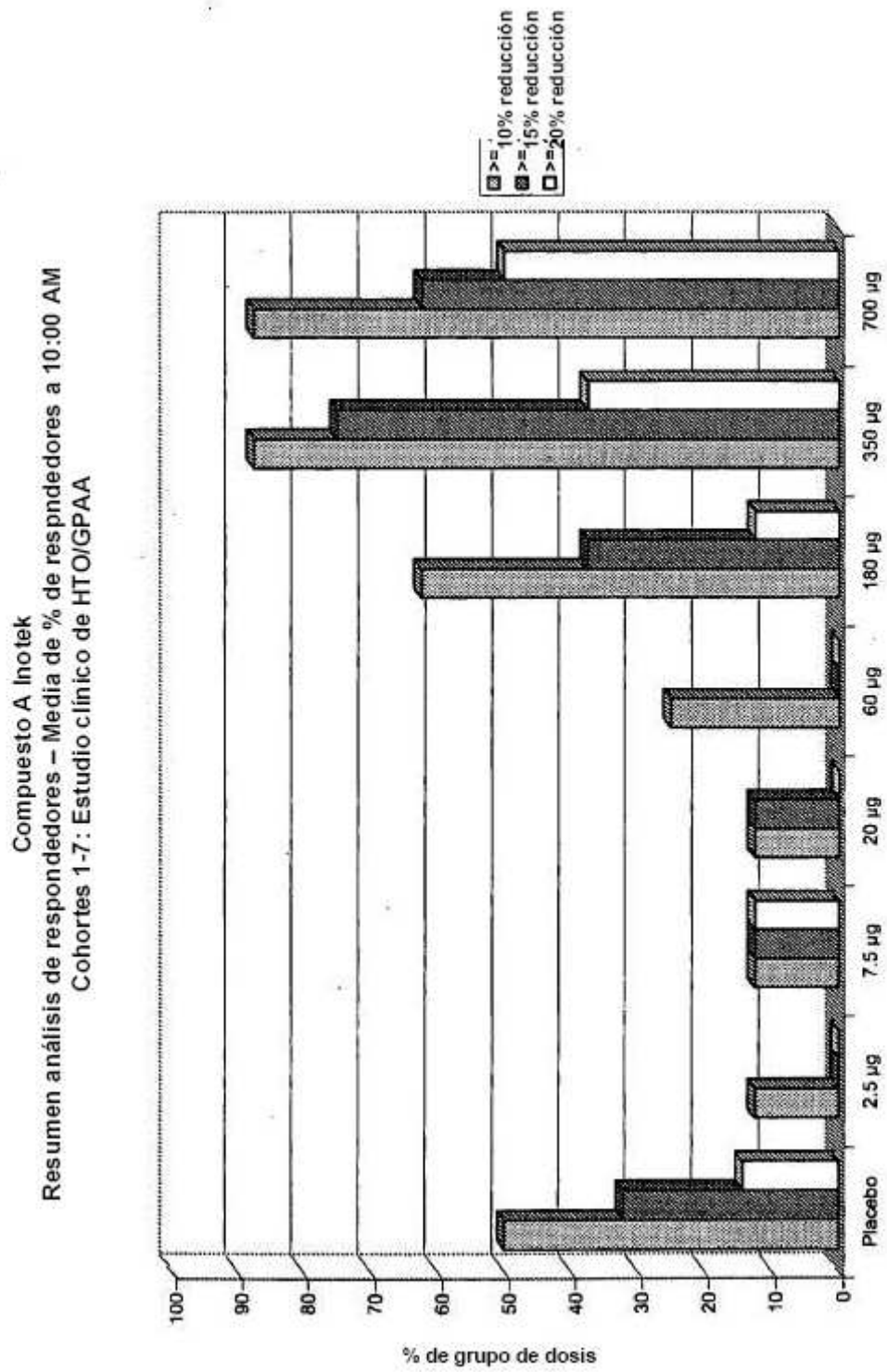


Figura 4b. Análisis de respondedores utilizando la media de tasa de respondedores durante el periodo de observación postdosis

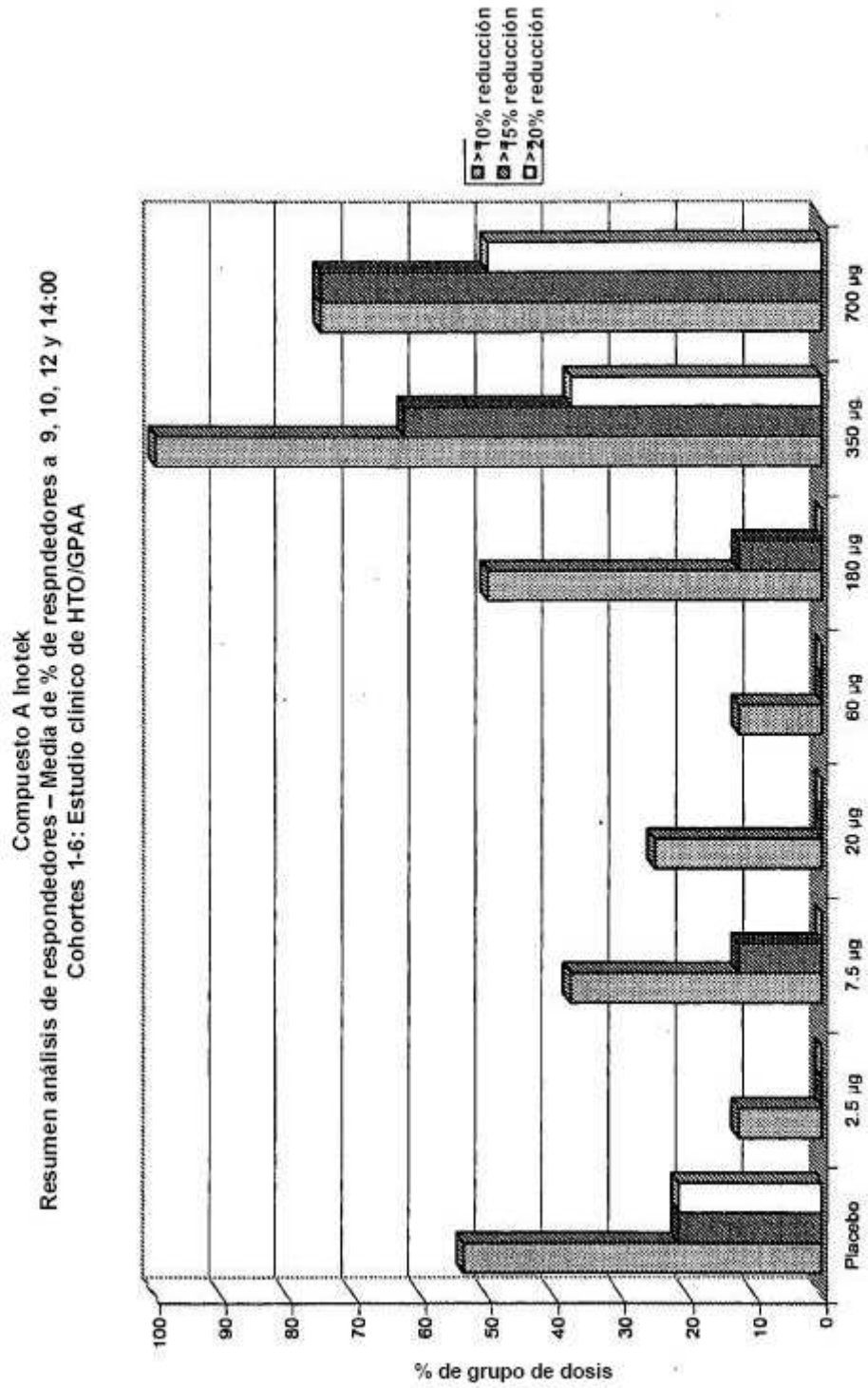


Figura 5

Compuesto A

Resumen análisis de respondedores – Media de % de respondedores a 9, 10, 12, 14:00

Cohorte 6: Estudio clínico de HTO/GPAA

Puntos de tiempo usados para calcular la media del % de cambio desde BL	Media de % de reducción desde BL		Mediana de % de reducción desde BL		% (n) de sujetos que tienen reducción de PIO $\geq 10\%$		% (n) de sujetos que tienen reducción de PIO $\geq 15\%$		% (n) de sujetos que tienen reducción de PIO $\geq 20\%$	
	Placebo (N=24)	350 mcg (N=8)	Placebo (N=24)	350 mcg (N=8)	Placebo (N=24)	350 mcg (N=8)	Placebo (N=24)	350 mcg (N=8)	Placebo (N=24)	350 mcg (N=8)
9AM, 10AM, 12AM, 2PM	-10.6	-18.5	-9	-17.2	41.7% (10)	100% (8)	29.2% (7)	62.5% (5)	20.8% (5)	37.5% (3)
9AM, 10AM, 12AM	-9.5	-16	-7.9	-14.9	37.5% (9)	87.5% (5)	20.8% (5)	50.4% (4)	12.5% (3)	37.5% (3)
9AM, 10AM	-8.3	-13.5	-5.5	-13	33.3% (8)	75% (6)	16.7% (4)	25% (2)	8.3% (2)	12.5% (1)
10AM	-10	-16.6	-8.8	-17.6	45.8% (11)	87.5% (7)	25% (6)	75% (6)	12.5% (3)	37.5% (3)
9AM	-6.6	-10.3	-4	-9.4	33.3% (8)	50% (4)	20.8% (5)	25% (2)	8.3% (2)	12.5% (1)

Figura 7 Resumen análisis de respondedores – Media de % de respondedores a 9, 10, 14 y 18:00
Cohorte 7, 700 mcg: Estudio clínico de HTO/GPAA

Compuesto A

Puntos de tiempo usados para calcular la media del % de cambio desde BL	Media de % de reducción desde BL		Mediana de % de reducción desde BL		% (n) de sujetos que tienen reducción de PIO $\geq 10\%$		% (n) de sujetos que tienen reducción de PIO $\geq 15\%$		% (n) de sujetos que tienen reducción de PIO $\geq 20\%$	
	Placebo (N=28)	700 mcg (N=8)	Placebo (N=28)	700 mcg (N=8)	Placebo (N=28)	700 mcg (N=8)	Placebo (N=28)	700 mcg (N=8)	Placebo (N=28)	700 mcg (N=8)
9AM, 10AM, 14PM, 18PM	-11.1	-17.4	-10.8	-18.4	53.6% (15)	75% (6)	25% (7)	75% (6)	21.4% (6)	37.5% (3)
9AM, 10AM, 14PM	-10.8	-16.6	-10.5	-19.5	53.6% (15)	75% (6)	21.4% (6)	75% (6)	21.4% (6)	50% (4)
9AM, 10AM	-8.9	-14.8	-6.7	-16	39.3% (11)	75% (6)	21.4% (6)	62.5% (5)	7.1% (2)	25% (2)
10AM	-10.7	-17.3	-10.2	-20.4	50% (14)	87.5% (7)	32.1% (8)	62.5% (5)	14.3% (4)	50% (4)
9AM	-7.1	-12.4	-4.1	-9.6	39.3% (11)	50% (4)	21.4% (6)	25% (2)	7.1% (2)	12.5% (1)

Figura 8. Media y Mediana de % de cambio desde la PIO predosis de la cohorte de 700 mcg y placebo

