

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 283**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4152 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2006 E 11170933 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2016 EP 2384791**

54 Título: **13,14-Dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E1 o 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E1 para el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria**

30 Prioridad:

21.03.2005 US 663200 P
11.05.2005 US 679920 P
30.09.2005 US 721976 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.11.2016

73 Titular/es:

SUCAMPO AG (50.0%)
Baarerstrasse 22
6300 Zug, CH y
NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY (50.0%)

72 Inventor/es:

UENO, RYUJI;
KUNO, SACHIKO;
BLIKSLAGER, ANTHONY T. y
MOESER, ADAM J.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 592 283 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

13,14-Dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E₁ o 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E₁ para el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria

CAMPO TÉCNICO

- 5 La presente invención se refiere a un compuesto y a una composición para uso en el tratamiento de trastornos de la mucosa.

En particular, la presente invención se refiere a un compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E₁ o un compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E₁ y a una composición para el tratamiento de una afección asociada con una función reducida de la barrera mucosa en un sujeto mamífero, es decir, una enfermedad intestinal inflamatoria.

10

TÉCNICA ANTERIOR

Los tejidos epiteliales actúan como barreras entre dos compartimentos líquidos, y la función de la barrera epitelial la proporcionan las células epiteliales y las uniones estrechas (de aquí en adelante, TJ o TJs, del inglés "tight junctions") que los conectan. Las TJs son los componentes más apicales de los complejos de unión célula-célula, desempeñan un papel crucial en el establecimiento y el mantenimiento de la polaridad celular dentro de los tejidos, y actúan como barreras selectivas frente a macromoléculas y evitan la difusión de lípidos y proteínas entre el dominio apical y basolateral de la membrana. Las TJs también crean la barrera variable que regula el movimiento paracelular de moléculas a través de la capa epitelial, manteniendo de este modo la homeostasis del tejido. Las TJs de la mucosa epitelial son estructuras dinámicas y están sujetas a una modulación durante la remodelación del tejido epitelial, la reparación de heridas, la inflamación y la transformación en tumores. La asociación de una función anormal de las TJs y el desarrollo de un tumor epitelial ha estado sugerida por estudios anteriores que muestran alteraciones en las estructuras de las TJs de cánceres epiteliales.

15

20

Existe una gran cantidad de informes sobre la relación fundamental entre una disminución o pérdida de la función de las TJs de la mucosa y una variedad de cánceres.

25

Se ha informado de que *Helicobacter pylori*, que desempeña una función en el desarrollo del carcinoma gástrico, interrumpe la función de la barrera epitelial (Infection and Immunity 66(6): 2943-2950, 1998 y Science 300: 1430-1434, 2003). También se ha informado de que la regulación a la baja de la proteína de la unión estrecha es común en el cáncer gástrico avanzado (Oncology Reports 13: 193-199, 2005).

30

Se ha informado de que el aumento de la permeabilidad de las TJs del epitelio del colon y en consecuencia una disminución de la función de la barrera epitelial, preceden al desarrollo de cáncer de colon (Carcinogenesis 20(8): 1425-1431, 1999).

Se ha informado de que las alteraciones en la función de las TJs pueden ser importantes en el desarrollo tanto de la enfermedad inflamatoria de la vejiga urinaria como del carcinoma de células transicionales (International Journal of Molecular Medicine 16: 3-9, 2005).

35

Se ha informado de que una pérdida de función y expresión de las moléculas de las TJs se observa en el cáncer de mama humano (American Journal of Pathology 153(6): 1767-1773, 1998 y Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia 8(4): 449-462, 2003).

Se ha informado de que la pérdida de las uniones estrechas tiene una estrecha relación con la atipia estructural en el desarrollo de carcinomas endometriales humanos y su potencial maligno (Human Pathology 35(2), 159-164: 2004).

40

Se ha informado de que la interrupción de las TJs, que se cree que contribuye a la tumorigénesis epitelial, se ha observado en células de cáncer de ovario (The Journal of Biological Chemistry 280(28): 26233-26240, 2005).

Se ha informado de que se han encontrado alteraciones de las TJs en tumores oncocíticos de la tiroides (Ultrastructural Pathology 22(6): 413-420, 1998).

45

Se ha informado de que existe una desorganización de las uniones estrechas en el carcinoma hepatocelular, y estas anomalías estructurales pueden alterar las barreras de permeabilidad y limitar la comunicación intercelular, lo que podría contribuir a la conducta proliferativa de las células neoplásicas (J. Submicrosc. Cytol. 15(3); 799-810, 1983).

50

El esófago de Barrett (EB) representa la consecuencia histológica más grave de la enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE) que se desarrolla en el 5-10% de los pacientes con ERGE. El esófago de Barrett es reconocido como un estado premaligno, siendo la incidencia de adenocarcinoma en los pacientes con esófago de Barrett mucho mayor que en la población general.

Se ha informado de que la barrera paracelular es claramente diferente en el epitelio de Barrett, y existe una marcada diferencia funcional en las propiedades de barrera en el epitelio de Barrett, en comparación con el esófago normal (American Journal of Gastroenterology 98(8): 1901-1903, 2003).

5 Se ha informado de que las alteraciones en las proteínas de las TJs en la esofagitis por reflujo (ERGE) incrementan más probablemente la permeabilidad del epitelio esofágico, alterando de este modo el mecanismo de defensa de este epitelio (Journal of Gastroenterology 40, 781-790, 2005).

10 La función de la barrera intestinal se refiere a la capacidad de la mucosa intestinal para evitar que componentes luminales potencialmente dañinos, tales como bacterias y toxinas asociadas, migren a través del epitelio y tengan acceso a los tejidos sistémicos. Un deterioro de la función de la barrera intestinal puede dar como resultado una variedad de afecciones patológicas, que incluyen lesión isquémica, choque, estrés, enfermedades infecciosas y enfermedades intestinales inflamatorias (EII).

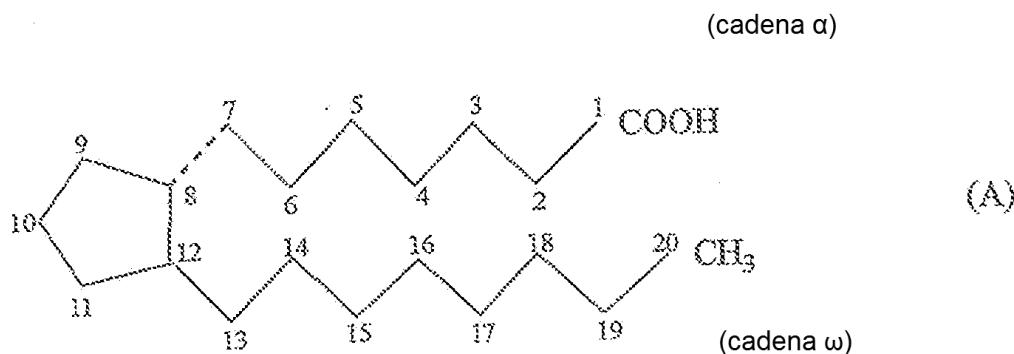
15 Las enfermedades intestinales inflamatorias (EII) se definen por una inflamación intestinal crónica y recurrente de origen poco claro, de las cuales las dos formas principales son la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Ambas enfermedades parecen implicar una respuesta inmune mal regulada frente a antígenos del tracto gastrointestinal (GI), una interrupción en la función de la barrera mucosa y/o una reacción inflamatoria adversa frente a una infección intestinal persistente, enfermedad del colágeno, radioterapia, medicación administrada por vía oral y similares.

20 La enfermedad de Crohn se caracteriza por áreas engrosadas de la pared gastrointestinal, con inflamación que se extiende a través de todas las capas, ulceración profunda y formación de fisuras en la mucosa, y la presencia de granulomas. Las áreas afectadas pueden presentarse en cualquier parte del tracto gastrointestinal, aunque el ileon terminal está implicado con frecuencia, y pueden estar intercaladas con áreas de tejido relativamente normal. En la colitis ulcerosa, la enfermedad también está presente en el colon y el recto. La inflamación es superficial pero continua sobre la zona afectada y los granulomas son raros.

25 También es cada vez más evidente que muchos pacientes enfermos de gravedad sufren de fallo multiorgánico, iniciado por una mala perfusión esplácnica. El fallo multiorgánico es la causa principal de muerte en pacientes en unidades de cuidados intensivos.

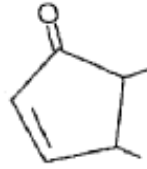
30 Estos trastornos de la mucosa gastrointestinal generalmente son difíciles de curar y, en algunos casos, se aplican tratamientos quirúrgicos a los mismos. Las terapias medicinales actualmente disponibles para estos trastornos incluyen esteroides, salazopirina (el nombre general es Salicilazosulfapiridina), agentes inmunosupresores, etc. Sin embargo, los fármacos esteroideos muestran efectos secundarios cuando se administran en grandes dosificaciones durante un período de tiempo largo, y los agentes inmunosupresores deben usarse con cuidado debido a efectos secundarios muy dañinos. Por lo tanto, se desea desarrollar un medicamento que sea eficaz para el tratamiento de trastornos de la mucosa gastrointestinal intratables y que se pueda utilizar de forma segura durante un largo período de tiempo.

35 Las prostaglandinas (de aquí en adelante, denominadas PGs) son miembros de una clase de ácidos carboxílicos orgánicos, que están contenidos en tejidos u órganos de seres humanos u otros mamíferos, y muestran una amplia variedad de actividad fisiológica. Las PGs que se encuentran en la naturaleza (PGs primarias) tienen generalmente un esqueleto de ácido prostanoico como se muestra en la fórmula (A):

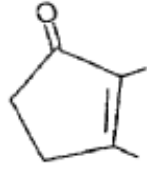


40 Las PGs se clasifican en varios tipos según la estructura y los sustituyentes en el anillo de cinco miembros, por ejemplo,

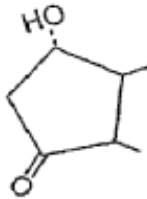
Prostaglandinas de la serie A (PGAs);



Prostaglandinas de la serie B (PGBs);

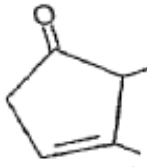


Prostaglandinas de la serie C (PGCs);

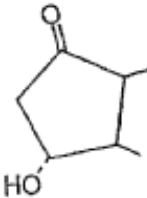


5

Prostaglandinas de la serie D (PGDs);

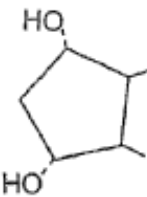


Prostaglandinas de la serie E (PGEs);



10

Prostaglandinas de la serie F (PGFs);



15

20

y similares. Además, se clasifican en PG₁s que contienen un doble enlace 13,14; PG₂s que contienen dobles enlaces 5,6 y 13,14; y PG₃s que contienen dobles enlaces 5,6, 13,14 y 17,18. Las PGs se conocen por tener diversas actividades farmacológicas y fisiológicas, por ejemplo, vasodilatación, inducción de inflamación, agregación de plaquetas, estimulación del músculo uterino, estimulación de la actividad muscular intestinal, efectos anti-úlceras y similares. Las principales prostaglandinas producidas en el sistema gastrointestinal (GI) humano son las de las series E, I y F (Sellin, *Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. (WB Saunders Company, 1998); Robert, *Physiology of the Gastrointestinal Tract* 1407-1434 (Raven, 1981); Rampton, *Prostaglandins: Biology and Chemistry of Prostaglandins and Related Eicosanoids* 323-344 (Churchill Livingstone, 1988); Hawkey, et al., *Gastroenterology*, 89: 1162-1188 (1985); Eberhart, et al., *Gastroenterology*, 109: 285-301 (1995)).

En condiciones fisiológicas normales, las prostaglandinas producidas endógenamente tienen un papel importante en el mantenimiento de la función gastrointestinal, incluyendo la regulación de la motilidad

intestinal y el tránsito, y la regulación de la consistencia fecal. (Sellin, *Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. (WB Saunders Company, 1998); Robert, *Physiology of the Gastrointestinal Tract* 1407-1434 (Raven, 1981); Rampton, *Prostaglandins: Biology and Chemistry of Prostaglandins and Related Eicosanoids* 323-344 (Churchill Livingstone, 1988); Hawkey, et al., *Gastroenterology*, 89: 1162-1188 (1985); Eberhart, et al., *Gastroenterology*, 109: 285-301 (1995); Robert, *Adv Prostaglandin Thromboxane Res*, 2:507-520 (1976); Main, et al., *Postgrad Med J*, 64 Supl. 1: 3-6 (1988); Sanders, *Am J Physiol*, 247: G117 (1984); Pairet, et al., *Am J Physiol*, 250 (3 pt 1): G302-G308 (1986); Gaginella, *Textbook of Secretory Diarrhea* 15-30 (Raven Press, 1990)). Cuando se administran en dosis farmacológicas, se ha observado que PGE₂ y PGF_{2α} estimulan el tránsito intestinal y causan diarrea (Robert, *Physiology of the Gastrointestinal Tract* 1407-1434 (Raven, 1981); Rampton, *Prostaglandins: Biology and Chemistry of Prostaglandins and Related Eicosanoids* 323-344 (Churchill Livingstone, 1988); Robert, *Adv Prostaglandin Thromboxane Res*, 2:507-520 (1976)). Además, el efecto secundario más descrito en general de misoprostol, un análogo de PGE₁ desarrollado para el tratamiento de la enfermedad ulcerosa péptica, es la diarrea (Monk, et al., *Drugs* 33 (1): 1-30 (1997)).

15 PGE o PGF pueden estimular la contracción intestinal, pero el efecto de secreción de fluido intestinal es deficiente.

En consecuencia, es poco práctico usar PGEs o PGFs como catárticos debido a los efectos secundarios, tales como contracción intestinal, que causan dolor abdominal.

20 Se ha descrito que mecanismos múltiples, que incluyen modificar las respuestas nerviosas entéricas, alterar la contracción del músculo liso, estimular la secreción mucosa, estimular la secreción iónica celular (en particular, el transporte electrogeno de Cl⁻) y aumentar el volumen del líquido intestinal, contribuyen a los efectos GI de las prostaglandinas (Robert, *Physiology of the Gastrointestinal Tract* 1407-1434 (Raven, 1981); Rampton, *Prostaglandins: Biology and Chemistry of Prostaglandins and Related Eicosanoids* 323-344 (Churchill Livingstone, 1988); Hawkey, et al., *Gastroenterology*, 89: 1162-1188 (1985); Eberhart, et al., *Gastroenterology*, 109: 285-301 (1995); Robert, *Adv Prostaglandin Thromboxane Res*, 2:507-520 (1976); Main, et al., *Postgrad Med J*, 64 Supl 1: 3-6 (1988); Sanders, *Am J Physiol*, 247: G117 (1984); Pairet, et al., *Am J Physiol*, 250 (3 pt 1): G302-G308 (1986); Gaginella, *Textbook of Secretory Diarrhea* 15-30 (Raven Press, 1990); Federal Register vol. 50, nº 10 (GP0,1985); Pierce, et al., *Gastroenterology* 60 (1): 22-32 (1971); Beubler, et al., *Gastroenterology*, 90: 1972 (1986); Clarke, et al., *Am J Physiol* 259: G62 (1990); Hunt, et al., *J Vet Pharmacol Ther*, 8 (2): 165-173 (1985); Dajani, et al., *Eur J Pharmacol*, 34 (1): 105-113 (1975); Sellin, *Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Management* 1451-1471 (WB Saunders Company, 1998)). Las prostaglandinas, además, se ha mostrado que tienen efectos citoprotectores (Sellin, *Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. (WB Saunders Company, 1998); Robert, *Physiology of the Gastrointestinal Tract* 1407-1434 (Raven, 1981); Robert, *Adv Prostaglandin Thromboxane Res* 2:507-520 (1976); Wallace, et al., *Aliment Pharmacol Ther* 9: 227-235 (1995)).

Los documentos de patente de EE.UU. nº 5.225.439, 5.166.174, 5.284.858, 5.428.062, 5.380.709, 5.876.034 y 6.265.440 describen que ciertos compuestos de prostaglandina E son eficaces para el tratamiento de úlceras tales como la úlcera duodenal y la úlcera gástrica.

40 El documento de patente de EE.UU. nº 5.317.032 de Ueno et al., describe compuestos catárticos de prostaglandina, que incluyen la existencia de tautómeros bicíclicos y el documento de patente de EE.UU. nº 6.414.016 de Ueno describe los tautómeros bicíclicos que tienen actividad pronunciada como agentes antiestreñimiento. Los tautómeros bicíclicos, sustituidos por uno o varios átomos de halógeno pueden emplearse en pequeñas dosis para aliviar el estreñimiento. En la posición C-16, especialmente, los átomos de flúor se pueden emplear en pequeñas dosis para aliviar el estreñimiento.

Los documentos de publicación de solicitud de Patente de EE.UU. nº 2003/0130352 y 2003/0166632 de Ueno et al., describen un compuesto de prostaglandina que abre y activa los canales de cloruro, especialmente los canales CIC, en particular el canal CIC-2.

50 El documento de publicación de solicitud de Patente de EE.UU. nº 2003/0119898 de Ueno et al., describe una composición específica de un compuesto de prostaglandina halogenado para el tratamiento y la prevención del estreñimiento. El documento WO2004/060377 A1 de Ueno et al., describe el uso de derivados de la prostaglandina E tales como 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoroprostaglandina E₁ como activador de los canales CIC-2 y su uso para el tratamiento de la molestia abdominal asociada con trastornos gastrointestinales, incluyendo el síndrome del intestino irritable.

55 Los inventores han mostrado previamente en un modelo porcino *in vitro* de isquemia intestinal que la restauración de la función de la barrera intestinal está mediada por un mecanismo que implica la producción de prostaglandina (PG) a través de vías dependientes de la ciclooxigenasa y la secreción activada de Cl⁻ (*Am J Physiol*, 276: G28-36, 1999 y *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 284:G46-56, 2003).

60 Los inventores también han mostrado previamente que PGE₂ y PGI₂ tienen una función sinérgica en la

restauración de la función de la barrera intestinal, mientras que la adición de cada una por separado, solo tenía un efecto menor (J. Clin. Invest. 1997. 100(8): 1928-1933).

Además, se indica que la secreción de Cl^- estimulada con PGE_1 disminuye en la restauración de la función de la barrera intestinal (J. Clin. Invest. 76: 1828-1836, 1985).

- 5 En otros estudios, se observó que Misoprostol tenía efectos sobre la función de la barrera, aunque desoxi- PGE_1 y sulprostona no tenían efectos sobre la misma (Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 281:G375-81, 2001).

10 En estudios adicionales, se han descrito prostaglandinas en la supresión de la colitis y la lesión de la mucosa. Kabashima et al., describen el uso de derivados de prostaglandina E_2 que actúan como agonistas selectivos de EP_4 y que tienen un potencial en el tratamiento de la enfermedad intestinal inflamatoria y la colitis (The Journal of Clinical Investigation, vol. 109, nº 7, 2002, páginas 883-893).

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

15 Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto y una composición para uso en el tratamiento de trastornos de la mucosa en un sujeto mamífero. Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un compuesto y una composición para uso en la protección de la mucosa en un sujeto mamífero.

20 A pesar de la técnica anterior, los inventores han encontrado que un compuesto de prostaglandina específico tiene un efecto significativo sobre un cambio conformacional en las TJs que logra la recuperación de la función de la barrera mucosa, lo que da como resultado el completamiento de la presente invención.

25 Es decir, la presente invención se refiere a un compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E_1 o un compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E_1 para uso en un método para tratar un trastorno de la mucosa, es decir, una enfermedad intestinal inflamatoria, en un sujeto mamífero, que comprende administrar una cantidad eficaz de dicho compuesto de prostaglandina.

30 En particular, la presente invención se refiere a un compuesto de prostaglandina para uso en un método para tratar una afección asociada con una función reducida de la barrera mucosa en un sujeto mamífero, que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E_1 o del compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E_1 a un sujeto que lo requiera.

La presente invención también se refiere a un compuesto de prostaglandina para uso en un método para proteger la mucosa en un sujeto mamífero, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E_1 o un compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E_1 específico a un sujeto que requiera protección.

35 En aún otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz del compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E_1 o del compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E_1 para uso en el tratamiento de un trastorno de la mucosa, es decir una enfermedad intestinal inflamatoria, en un sujeto mamífero. La composición de la presente invención se puede utilizar para el método de la presente invención descrito anteriormente.

40 En todavía otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso del compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E_1 o del compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E_1 para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno de la mucosa, es decir una enfermedad intestinal inflamatoria, en un sujeto mamífero.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

45 La Fig. 1 es un gráfico que muestra la resistencia eléctrica transepitelial (TER) como respuesta al Compuesto A (13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro- PGE_1) en un íleon porcino con lesión por isquemia. Los valores representan las medias \pm SE; $n = 6$. Los tejidos isquémicos bañados en indometacina (5×10^{-6} M) que contenía solución de Ringer, muestran elevaciones marcadas en la resistencia eléctrica transepitelial (TER) en presencia del Compuesto A (dosis 0,1 μM y 1 μM), añadido después de un periodo de estabilización de 30 min.

55 La Fig. 2A es un gráfico que muestra el efecto del Compuesto A sobre la corriente de cortocircuito. La Fig. 2B es un gráfico que muestra el cambio en la corriente de cortocircuito (ΔI_{sc}) como respuesta al Compuesto A en el íleon porcino con lesión por isquemia. En ambas figuras, los valores representan las medias \pm SE; $n = 6$. Los tejidos isquémicos se bañaron en indometacina (5×10^{-6} M) que contenía solución de Ringer. Incrementos significativos ($P < 0,05$) en la secreción de Cl^- , indicados por el cambio de la corriente de cortocircuito (I_{sc}) y el cambio absoluto en la corriente de cortocircuito (ΔI_{sc}), se observaron

como respuesta al tratamiento con dosis crecientes de Compuesto A (*P < 0,05).

La Fig. 3 es un gráfico que muestra el efecto del Compuesto A sobre los flujos de ³H-manitol desde la mucosa a la serosa. Los valores representan las medias ± SE, n = 4. Los tejidos isquémicos se bañaron en indometacina (5 x 10⁻⁶ M) que contenía solución de Ringer. El íleon porcino sometido a isquemia intestinal mostraba mayores flujos de ³H-manitol desde la mucosa a la serosa, en comparación con el control no isquémico. La aplicación de Compuesto A 1 μM reducía los flujos de ³H-manitol desde la mucosa a la serosa a los niveles del control no isquémico. *P < 0,05.

La Fig. 4 es un gráfico que muestra un cambio en la corriente de cortocircuito como respuesta al tratamiento con el Compuesto A en el colon ascendente porcino con lesión por isquemia.

La Fig. 5 es un gráfico que muestra una resistencia eléctrica transepitelial (TER) como respuesta al tratamiento con Compuesto A en el colon ascendente porcino con lesión por isquemia.

La Fig. 6 es un gráfico que muestra los flujos de ³H-manitol desde la mucosa a la serosa como respuesta al tratamiento con Compuesto A en el colon ascendente porcino con lesión por isquemia.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La nomenclatura de los compuestos de prostaglandina empleados en este documento se basa en el sistema de numeración del ácido prostanoico, representado en la fórmula (A) anterior.

La fórmula (A) muestra un esqueleto básico de los átomos de carbono C-20, pero la presente invención no se limita a los que tienen el mismo número de átomos de carbono. En la fórmula (A), la numeración de los átomos de carbono que constituyen el esqueleto básico de los compuestos de PG comienza en el ácido carboxílico (numerado con 1), y los átomos de carbono en la cadena α están numerados de 2 a 7 hacia el anillo de cinco miembros, los que están en el anillo son 8 a 12, y los de la cadena ω son 13 a 20. Cuando el número de átomos de carbono disminuye en la cadena α, se elimina el número en el orden partiendo desde la posición 2; y cuando el número de átomos de carbono se incrementa en la cadena α, los compuestos se denominan compuestos de sustitución que tienen los respectivos sustituyentes en la posición 2, en lugar del grupo carboxi (C-1). Del mismo modo, cuando el número de átomos de carbono disminuye en la cadena ω, se elimina el número en el orden partiendo desde la posición 20; y cuando el número de átomos de carbono se incrementa en la cadena ω, los átomos de carbono más allá de la posición 20 se denominan sustituyentes. La estereoquímica de los compuestos es la misma que la de la fórmula (A) anterior, a menos que se especifique lo contrario.

En general, cada uno de los términos PGD, PGE y PGF representa un compuesto de PG que tiene grupos hidroxilo en las posiciones 9 y/o 11, pero en la presente memoria descriptiva, estos términos incluyen también aquellos que tienen sustituyentes distintos del grupo hidroxilo en las posiciones 9 y/o 11. Tales compuestos se denominan compuestos de 9-deshidroxilo-9-sustituído-PG o compuestos de 11-deshidroxilo-11-sustituído-PG. Un compuesto de PG que tiene un hidrógeno en lugar del grupo hidroxilo se denomina simplemente compuesto de 9- o 11-desoxi-PG.

Como se ha indicado anteriormente, la nomenclatura de los compuestos de PG se basa en el esqueleto de ácido prostanoico. Sin embargo, en caso de que el compuesto tenga una estructura parcial similar a una prostaglandina, se puede utilizar la abreviatura "PG". Por lo tanto, un compuesto de PG en el cual la cadena α se extiende con dos átomos de carbono, es decir, que tiene 9 átomos de carbono en la cadena α, se denomina compuesto 2-descarboxi-2-(2-carboxietil)-PG. De manera similar, un compuesto de PG que tiene 11 átomos de carbono en la cadena α, se denomina compuesto 2-descarboxi-2-(4-carboxibutil)-PG. Además, un compuesto de PG en el cual la cadena ω se extiende con dos átomos de carbono, es decir, que tiene 10 átomos de carbono en la cadena ω se denomina compuesto 20-etil-PG. Estos compuestos, sin embargo, también se pueden denominar según la nomenclatura de la IUPAC.

Las "sales farmacéuticamente aceptables" adecuadas incluyen sales no tóxicas usadas convencionalmente, por ejemplo, una sal con una base inorgánica tal como una sal de metal alcalino (tal como sal de sodio y sal de potasio), una sal de metal alcalinotérreo (tal como sal de calcio y sal de magnesio), una sal de amonio; o una sal con una base orgánica, por ejemplo, una sal de amina (tal como sal de metilamina, sal de dimetilamina, sal de ciclohexilamina, sal de bencilamina, sal de piperidina, sal de etilendiamina, sal de etanolamina, sal de dietanolamina, sal de trietanolamina, sal de tris(hidroximetilamino)etano, sal de monometil- monoetanolamina, sal de procaína y sal de cafeína), una sal de aminoácido básico (tal como sal de arginina y sal de lisina), sal de tetraalquilamonio y similares. Estas sales se pueden preparar mediante un procedimiento convencional, por ejemplo, a partir del ácido y la base correspondientes o mediante intercambio de sales.

La realización más preferida es un compuesto de prostaglandina que es 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E₁ o 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E₁.

En la presente invención, el compuesto de PG que es dihidro entre 13 y 14, y ceto (=O) en la posición 15,

puede estar en equilibrio ceto-hemiacetal mediante la formación de un hemiacetal entre el hidroxilo en la posición 11 y el ceto en la posición 15.

Por ejemplo, se ha puesto de manifiesto que el compuesto contiene un isómero tautómero, un compuesto bicíclico.

5 Si tales isómeros tautómeros como los anteriores están presentes, la proporción de ambos isómeros tautómeros varía con la estructura del resto de la molécula o el tipo de sustituyente presente. A veces, un isómero puede estar presente de forma predominante, en comparación con el otro. Sin embargo, es de apreciar que la presente invención incluye ambos isómeros.

10 Además, los compuestos 15-ceto-PG utilizados en la invención incluyen el compuesto bicíclico y análogos o derivados de los mismos.

Además, aunque los compuestos empleados en la invención pueden estar representados por una fórmula o un nombre basado en el tipo de ceto, independientemente de la presencia o ausencia de los isómeros, es de señalar que una estructura o un nombre de este tipo no pretende excluir el compuesto de tipo hemiacetal.

15 En la presente invención, cualquiera de los isómeros tales como los isómeros tautómeros individuales, la mezcla de los mismos o isómeros ópticos, la mezcla de los mismos, una mezcla racémica, y otros isómeros estéricos, se pueden utilizar con el mismo fin.

Algunos de los compuestos utilizados en la presente invención se pueden preparar por el método descrito en USP nº 5.073.569, 5.166.174, 5.221.763, 5.212.324, 5.739.161 y 6.242.485.

20 De acuerdo con la presente invención, un trastorno de la mucosa, es decir, una enfermedad intestinal inflamatoria, en un sujeto mamífero se puede tratar mediante la administración al sujeto del compuesto de prostaglandina que se ha descrito anteriormente. El sujeto puede ser cualquier sujeto mamífero incluyendo un ser humano. El compuesto se puede aplicar de forma sistémica o tópica. Por lo general, el compuesto se puede administrar mediante administración oral, inyección intravenosa (incluyendo infusión), inyección subcutánea, administración intrarrectal, administración intravaginal, administración transdérmica y similares.

30 La dosis puede variar dependiendo de la raza del animal, la edad, el peso corporal, los síntomas a tratar, el efecto terapéutico deseado, la vía de administración, la duración del tratamiento y similares. Un efecto satisfactorio se puede obtener mediante administración sistémica 1-4 veces al día o mediante administración continua de la cantidad 0,001-1000 µg, más preferiblemente de 0,01-100 µg de ingrediente activo por un kg de peso corporal al día.

35 El compuesto de prostaglandina se puede formular preferiblemente en una composición farmacéutica adecuada para la administración de una manera convencional. La composición puede ser adecuada para administración oral, inyección o perfusión, así como que puede ser un agente externo, un supositorio o un pesario.

40 La composición de la presente invención puede contener además aditivos fisiológicamente aceptables. Dichos aditivos pueden incluir excipiente, diluyente, material de carga, resolvente, lubricante, adyuvante, aglutinante, disgregante, agente de revestimiento, agente de encapsulación, base de pomada, base de supositorio, agente de aerosol, emulsionante, agente dispersante, agente de suspensión, espesante, agente de tonicidad, agente tamponante, agente suavizante, conservante, antioxidante, corrector, aroma, colorante, un material funcional tal como ciclodextrina y polímero biodegradable y estabilizante. Los aditivos son bien conocidos en la técnica y se pueden seleccionar a partir de los descritos en libros de consulta generales de productos farmacéuticos.

45 La cantidad del compuesto de prostaglandina definido anteriormente en la composición de la invención puede variar dependiendo de la formulación de la composición, y en general puede ser de 0,000001-10,0%, más preferiblemente de 0,00001-5,0%, lo más preferible de 0,0001-1%.

50 Ejemplos de composiciones sólidas para administración oral incluyen comprimidos, trociscos, comprimidos sublinguales, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos y similares. La composición sólida se puede preparar mezclando uno o varios ingredientes activos con al menos un diluyente inactivo. La composición puede contener además aditivos distintos de los diluyentes inactivos, por ejemplo, un lubricante, un disgregante y un estabilizante. Los comprimidos y las píldoras se pueden revestir con una película entérica o gastroentérica, si es necesario. Pueden estar revestidos con dos o más capas. También se pueden incorporar en un material de liberación sostenida, o estar microencapsulados. Además, las composiciones pueden estar encapsuladas por medio de un material fácilmente degradable, tal como gelatina. Se pueden disolver adicionalmente en un disolvente apropiado, tal como ácido graso o su mono, di o triglicérido para proporcionar una cápsula blanda. El comprimido sublingual se puede utilizar si hay necesidad de propiedades de acción rápida.

5 Ejemplos de composiciones líquidas para administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires, y similares. Dicha composición puede contener además un diluyente inactivo utilizado convencionalmente, por ejemplo, agua purificada o alcohol etílico. La composición puede contener aditivos distintos de los diluyentes inactivos, tales como adyuvante, por ejemplo, agentes humectantes y agentes de suspensión, edulcorantes, sabores, fragancias y conservantes.

La composición de la presente invención puede estar en forma de composición para pulverización, que contiene uno o más ingredientes activos y se puede preparar de acuerdo con un método conocido.

10 Ejemplos de las composiciones inyectables de la presente invención para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones estériles acuosas o no acuosas. Los diluyentes para la solución o suspensión acuosa pueden incluir, por ejemplo, agua destilada para inyección, solución salina fisiológica y solución de Ringer.

15 Los diluyentes no acuosos para solución y suspensión pueden incluir, por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, alcoholes tales como etanol y polisorbato. La composición puede comprender además aditivos tales como agentes conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes dispersantes y similares. Se pueden esterilizar mediante filtración a través, por ejemplo, de un filtro que retiene las bacterias, mediante elaboración con un agente esterilizante o por medio de esterilización por irradiación de gases o radioisótopos. La composición inyectable también se puede proporcionar como una composición en polvo esterilizada que se disuelve en un disolvente esterilizado para inyectar antes del uso.

20 El agente externo presente incluye todas las preparaciones externas utilizadas en el campo de la dermatología y la otorrinolaringología, que incluyen pomadas, cremas, lociones y aerosoles.

25 Otra forma de la presente invención es un supositorio o pesario, que se puede preparar mezclando ingredientes activos en una base convencional, tal como manteca de cacao que se ablanda a la temperatura corporal, y tensioactivos no iónicos que tienen temperaturas de reblandecimiento adecuadas que se pueden utilizar para mejorar la capacidad de absorción.

El término "tratamiento" o "tratar" utilizado en esta memoria, incluye cualquier medio de control tal como la prevención, el cuidado, el alivio de la afección, la atenuación de la afección y la detención de la progresión.

30 De acuerdo con la presente invención, el compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E₁ o el compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E₁ induce un cambio conformacional en la unión estrecha que da lugar a la recuperación de la función de la barrera mucosa. Por consiguiente, el compuesto de prostaglandina usado en este documento es útil para el tratamiento de trastornos de la mucosa.

35 La expresión "trastorno de la mucosa" utilizada en esta memoria se refiere a la afección asociada con una función reducida de la barrera mucosa. Una afección de este tipo asociada con una reducción de la función de la barrera mucosa puede ser cualquier lesión de la mucosa causada por cualquier factor patológico. Tales factores incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, inflamación, lesión isquémica, choque, estrés, respuesta inmune mal regulada frente a los antígenos, infección, enfermedad entérica, enfermedad del colágeno, radiación, medicamentos y similares. Un ejemplo preferible incluye un trastorno de la mucosa gastrointestinal.

40

45 El trastorno de la mucosa gastrointestinal incluye una enfermedad intestinal inflamatoria tal como la enfermedad de Crohn, la colitis que incluye colitis ulcerosa, colitis isquémica, proctitis ulcerosa, proctosigmoiditis ulcerosa, colitis linfocítica, colitis distal refractaria, ileocolitis, colitis colagenosa, colitis microscópica, bolsitis, colitis por radiación, colitis asociada a antibióticos y diverticulitis, y la enfermedad de Behcet.

Los compuestos usados en este documento también son útiles para el tratamiento del fallo multiorgánico iniciado por una mala perfusión esplácnica, y la pérdida resultante de las propiedades de barrera intestinal.

50 Tal y como se ha descrito anteriormente, existe una relación fundamental entre la disminución o pérdida de la función de las uniones estrechas de la mucosa y una variedad de cánceres, de modo que otro aspecto de la afección por reducción de la función de la barrera mucosa descrita en esta memoria puede incluir el cáncer o una afección premaligna.

55 El cáncer o la afección premaligna descrita en este documento incluye, pero no se limita a, carcinoma de esófago, enfermedad de reflujo gastroesofágico, esófago de Barrett, carcinoma gástrico, cáncer duodenal, cáncer de intestino delgado, cáncer de apéndice, cáncer de intestino grueso, cáncer de colon, cáncer de recto, carcinoma anal, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de bazo, carcinoma renal, cáncer de vejiga, carcinoma de próstata, carcinoma testicular, cáncer uterino, cáncer de

ovario, carcinoma de mama, carcinoma pulmonar y carcinoma de tiroides.

Ejemplo 1

(Método)

Cirugías experimentales en animales

- 5 Cerdos Yorkshire cruzados de seis a ocho semanas de edad, de ambos sexos se alojaron individualmente, y se alimentaron con un pienso granulado comercial. Los cerdos se tuvieron sin alimentación durante 24 horas antes de la cirugía experimental. La anestesia general fue inducida con xilazina (1,5 mg/kg, IM), ketamina (11 mg/kg, IM) y tiopental (15 mg/kg, IV) y se mantuvo con una infusión intermitente de tiopental (6 - 8 mg/kg/h). Los cerdos se colocaron sobre una almohadilla con calefacción y se suministró ventilación con 100% de O₂ a través de una traqueotomía, utilizando un ventilador con ciclos temporizados. La arteria carótida y la vena yugular se canularon y se realizó un análisis de gases en sangre para confirmar el pH normal y las presiones parciales de CO₂ y O₂. Se administró solución de Ringer lactato por vía intravenosa con una tasa de mantenimiento de 15 ml/kg/h. El íleon se abordó a través de una incisión en la línea media ventral. Se delinearón segmentos del íleon ligando el intestino a intervalos de 10 cm, y se sometieron a isquemia mediante oclusión del suministro de sangre mesentérica local durante 45 minutos.

Estudios en cámara de Ussing

- Después del período de isquemia de 45 minutos, los tejidos del cerdo se recogieron y la mucosa fue separada de la capa seromuscular en solución de Ringer oxigenada (95% de O₂ / 5% de CO₂) (mmol/l: Na⁺, 154; K⁺, 6,3; Cl⁻, 137; HCO₃⁻, 24; pH 7,4) que contenía indometacina 5x10⁻⁶ M para evitar la producción de PG endógena durante el procedimiento de extracción. Los tejidos se montaron en cámaras de Ussing con una apertura de 3,14 cm². Para los experimentos en cámara de Ussing, los tejidos del íleon de un cerdo se montaron en cámaras de Ussing múltiples y se sometieron a diferentes tratamientos *in vitro*. Los tejidos se bañaron por el lado de la serosa y el de la mucosa con 10 ml de solución de Ringer. La solución del baño de la serosa contenía glucosa 10 mM, y estaba equilibrada por ósmosis en el lado de la mucosa con manitol 10 mM. Las soluciones del baño se oxigenaron (95% de O₂ / 5% de CO₂) y se distribuyeron en depósitos rodeados de agua. La diferencia de potencial espontáneo (PD) se midió utilizando puentes de Ringer-agar conectados a electrodos de calomelano y la PD era un corto circuito a través de electrodos de Ag-AgCl, usando una pinza de tensión que corregía la resistencia del fluido. La resistencia eléctrica transepitelial ($\Omega \cdot \text{cm}^2$) se calculó a partir de la PD espontánea y la corriente de cortocircuito (I_{sc}). Si la PD espontánea estaba entre -1,0 y 1,0 mV, los tejidos se fijaron con corriente a $\pm 100 \mu\text{A}$ durante 5 segundos y se registró la PD. La corriente de cortocircuito y la PD se registraron a intervalos de 15 minutos durante un experimento de 4 horas.

Tratamientos experimentales

- 35 Después de montar los tejidos en cámaras de Ussing, se permitió que los tejidos se aclimataran durante un período de 30 minutos para lograr mediciones de referencia estables. A continuación, los tejidos se trataron con dosis variables de Compuesto A (13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-PGE₁) (0,01 μM , 0,1 μM y 1 μM) añadiendo el compuesto a la solución del baño de la mucosa (t = 30 min).

Estudios del flujo de ³H-manitol

- 40 Estos estudios se realizaron al mismo tiempo que se registraron las mediciones eléctricas. Para evaluar el flujo de la mucosa a la serosa, se añadió ³H-manitol a las soluciones de mucosa. Después de un periodo de estabilización de 15 minutos, se tomaron los patrones de los depósitos del baño. Treinta minutos después de la adición de los tratamientos, tres periodos sucesivos de flujo de 60 minutos (desde 30 a 210 minutos de los experimentos) se realizaron tomando muestras de los depósitos del baño en el lado opuesto al lado de la adición del isótopo. En las muestras se hizo un recuento del ³H-manitol en un contador de centelleo líquido. El flujo unidireccional de mucosa a serosa (J_{ms}) se determinó utilizando ecuaciones convencionales.

Examen histológico

- 50 Los tejidos se tomaron a los 0, 60 y 180 minutos para una evaluación histológica de rutina. Los tejidos se seccionaron (5 μm) y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Para cada tejido, se evaluaron 3 secciones. Cuatro vellosidades y criptas con la orientación adecuada se identificaron en cada sección. Se obtuvo la longitud de la vellosidad utilizando un micrómetro en la pieza ocular de un microscopio óptico. Además, se midió la altura de la parte cubierta por epitelio de cada vellosidad. El área de la superficie de la vellosidad se calculó utilizando la fórmula para el área de la superficie de un cilindro. La fórmula se modificó restando el área de la base de la vellosidad, y multiplicando por un factor que representaba la posición variable en la que cada vellosidad estaba cortada transversalmente en secciones (*Gastroenterology* 1993; 104: 440-471). El porcentaje de la superficie de la vellosidad que quedaba desnuda (sin epitelio) se calculó a partir

del área de la superficie total de la vellosidad y el área de la superficie de la vellosidad cubierta por epitelio. El porcentaje del área de la superficie de la vellosidad denudada se utilizó como un índice de restitución epitelial.

Análisis estadístico

- 5 Los datos se presentaron como medias \pm SE. Todos los datos se analizaron usando un ANOVA para medidas repetidas, excepto cuando la respuesta pico se analizó mediante el uso de ANOVA de una vía convencional (Sigmastat, Jandel Scientific, San Rafael, CA). Se utilizó la prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos después del ANOVA.

(Resultados)

- 10 El efecto sobre la corriente de cortocircuito y la resistencia transepitelial a lo largo del íleon porcino con lesión por isquemia

15 El íleon porcino se sometió a un período de 45 minutos de isquemia mesentérica y después se montó en cámaras de Ussing sobre las que se determinó la corriente de cortocircuito (I_{sc}), un indicador de la secreción de Cl^- , y la resistencia transepitelial (TER), un indicador de la función de la barrera mucosa. Cuarenta y cinco minutos de isquemia intestinal daban como resultado una caída del 40% en TER, en comparación con el tejido de control no isquémico, lo que indicaba que la función de la barrera se deterioraba en el tejido isquémico. La aplicación de Compuesto A 0,01 μ M, 0,1 μ M y 1 μ M en el lado de la mucosa de la mucosa lesionada por isquemia (Figura 1) inducía aumentos dependientes de la dosis de TER, en donde el Compuesto A 1 μ M estimulaba un incremento de 2 veces en la TER ($\Delta TER = 26 \Omega \cdot cm^2$, $P < 0,01$).

20 La aplicación de Compuesto A 0,1 μ M y 1 μ M a la mucosa isquémica, estimulaba picos agudos y significativos ($P < 0,05$) en la I_{sc} , de una manera dependiente de la dosis, lo que indicaba una activación de la secreción electrógena de Cl^- en estos tejidos. Se observaron respuestas similares a la dosis cuando se evaluaba el efecto del Compuesto A sobre el cambio absoluto en I_{sc} ($\Delta I_{sc} = 29 \pm 5,1$, $16 \pm 4,5$, y $2 \pm 0,8$ para el Compuesto A 1 μ M, 0,1 μ M y 0,01 μ M). Las elevaciones de la I_{sc} precedían aumentos en la TER.

El efecto sobre el flujo de manitol desde la mucosa a la serosa en el íleon porcino con lesión por isquemia.

30 Debido a que el flujo de 3H -manitol desde la mucosa a la serosa ha mostrado que es un indicador sensible de la función de la barrera mucosa, medimos el flujo de 3H -manitol a través de la mucosa lesionada por isquemia para confirmar los valores de TER. La lesión isquémica producía un aumento significativo del flujo de manitol, en comparación con el tejido de control no lesionado (Fig. 3), indicando que la función de la barrera estaba afectada en el tejido isquémico. La aplicación de Compuesto A 1 μ M daba como resultado el retorno del flujo del 3H -manitol a los niveles de control no isquémicos.

Evaluación histológica del tejido isquémico tratado con el Compuesto A

35 La restauración aguda de la función de la barrera en la mucosa lesionada implica 3 mecanismos concertados: (1) la contracción de la vellosidad que reduce el área de la superficie total denudada para su reparación, (2) la restitución o migración celular para sellar la membrana basal expuesta, y (3) el cierre del espacio paracelular y las uniones estrechas. Para determinar si las mejoras en la función de la barrera como respuesta al tratamiento con el Compuesto A se habían debido en parte a una restitución epitelial mejorada, se evaluó la histología de la recuperación de los tejidos isquémicos en varios momentos durante el período de recuperación. El análisis histológico de los tejidos lesionados reveló un desprendimiento y levantamiento del epitelio intestinal en el tercio apical de las vellosidades. Esto se correlaciona con un área de la superficie del epitelio denudada del 30% mediante análisis morfométrico (Tabla 1). Durante los 60 minutos empleados en montar los tejidos en las cámaras de Ussing, las vellosidades intestinales se habían sometido a una restitución rápida y completa.

- 45 Tabla 1. Evaluación morfométrica de la restitución del epitelio de la mucosa del íleon porcino con lesión por isquemia

Tratamiento	Tiempo de recuperación (min)	Área de la superficie de epitelio denudada (%)	Altura de la vellosidad (mm)
Control no isquémico	0	0 \pm 0	0,16 \pm 0,02*
Isquémico	0	30,2 \pm 4,7	0,10 \pm 0,01
Isquémico/Indo	60	6,6 \pm 2,6*	0,16 \pm 0,01*
Isquémico/Indo/Compuesto A	60	4,2 \pm 2,5*	0,21 \pm 0,02 [#]
Isquémico/Indo	180	0 \pm 0**	0,14 \pm 0,03*

Isquémico/Indo/Compuesto A

180

 $0 \pm 0^{**}$ $0,20 \pm 0,01^{\#}$

En la Tabla 1, los valores representan las medias \pm SE del % de área de la vellosidad denudada y la altura de la vellosidad; n = 3. Los tejidos eran íleon de mamífero sometidos a 45 min de isquemia *in vivo*, después de lo cual se montaron en cámaras de Ussing para el seguimiento de las respuestas de recuperación. Los tejidos se recogieron 0 min, 60 min y 180 min después de la isquemia durante la fase de recuperación *in vitro*, se fijaron en formalina tamponada al 10% y se procesaron para el examen histológico de acuerdo con protocolos convencionales. La indometacina (Indo) se administró para seleccionar los tejidos a 5 μ M, y el Compuesto A se administró a 1 μ M. Los valores que carecen de superíndice común (*, #) difieren en P <0,05.

10 Ejemplo 2

De acuerdo con el mismo procedimiento descrito en el Ejemplo 1, excepto por el uso de colon en lugar de íleon, se investigó la recuperación de la función de la barrera mucosa en estado isquémico a través de la función de la barrera mucosa en estado isquémico a través del Compuesto A.

15 A) Cambio en la respuesta de la corriente de cortocircuito frente al Compuesto A en el colon ascendente porcino lesionado por isquemia, B) resistencia transepitelial eléctrica (TER) como respuesta al Compuesto A en el colon ascendente porcino lesionado por isquemia y C) flujos de 3 H-manitol desde la serosa a la mucosa como respuesta al Compuesto A en el colon ascendente porcino lesionado por isquemia, se muestran en las figuras 4 a 6, respectivamente.

20 La aplicación del Compuesto A al colon ascendente porcino lesionado por isquemia incrementaba la Isc (Figura 4) y la TER y reducía los flujos de 3 H-manitol desde la serosa a la mucosa (Figuras 5 y 6).

Conclusiones

25 Los datos muestran que el agonista de CIC-2, el Compuesto A, estimula la secreción de Cl⁻ y la posterior recuperación de la función de la barrera mucosa en el íleon y el colon porcinos lesionados por isquemia. Además, el efecto beneficioso del Compuesto A sobre la función de la barrera mucosa parece estar mediado a través de reducciones de la permeabilidad paracelular y ser independiente de la restitución epitelial. Estas observaciones indican que el agonista de CIC-2, el Compuesto A, induce un cambio conformacional en la unión estrecha que da lugar a la recuperación de la función de la barrera. Los agonistas selectivos de CIC-2 pueden proporcionar un nuevo medio farmacológico para acelerar la recuperación de lesiones agudas del intestino.

30 Ejemplo 3

35 Ratas hembra CrI:CD(SD)IGS BR VAF/Plus fueron asignadas a 4 grupos de estudio (65/grupo). Los Grupos 2 a 4 recibieron 20, 100 o 400 μ g/kg/día de Compuesto A, respectivamente, mediante una sonda oral durante 104 semanas. El grupo de control (Grupo 1) recibió el vehículo, una solución acuosa al 1% de polisorbato 80. El volumen de la dosis era de 5 ml/kg/día para todos los grupos. Cuando se producía la muerte imprevista de un animal durante el período de estudio, se realizaba una autopsia del animal. Después de 104 semanas de tratamiento, todos los animales supervivientes fueron sacrificados y se practicaron las autopsias. Cada rata se evaluó microscópicamente para analizar la aparición de carcinoma de mama.

Como se muestra en la Tabla 2, el Compuesto A reducía la incidencia de carcinoma de mama.

40 Tabla 2. Incidencia de carcinoma de mama

Grupo	Dosis μ g/kg/día	Número de animales examinados	Número de animales con carcinoma de mama
1. Control (Vehículo)	0	65	12
2. Compuesto A	20	65	6
3. Compuesto A	100	65	5
4. Compuesto A	400	63	4

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto de prostaglandina para uso en el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria en un sujeto mamífero, en donde dicho compuesto de prostaglandina es el compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E₁ o el compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E₁.
- 10 2. Un compuesto según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria en un sujeto mamífero, en donde dicho compuesto de prostaglandina es 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E₁ o 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E₁.
- 15 3. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, para uso en el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria en un sujeto mamífero, en donde dicha enfermedad intestinal inflamatoria es la enfermedad de Crohn, colitis o la enfermedad de Behcet.
- 20 4. Un compuesto según la reivindicación 3, para uso en el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria en un sujeto mamífero, en donde dicha colitis se selecciona a partir del grupo que consiste en colitis ulcerosa, colitis isquémica, proctitis ulcerosa, proctosigmoiditis ulcerosa, colitis linfocítica, colitis distal refractaria, ileocolitis, colitis colagenosa, colitis microscópica, bolsitis, colitis por radiación, colitis asociada a antibióticos y diverticulitis.
5. Un compuesto para proteger la mucosa para uso en el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria en un sujeto mamífero, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de prostaglandina, en donde dicho compuesto de prostaglandina es el compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-prostaglandina E₁ o el compuesto 13,14-dihidro-15-ceto-16,16-difluoro-18-metil-prostaglandina E₁.

Fig. 1

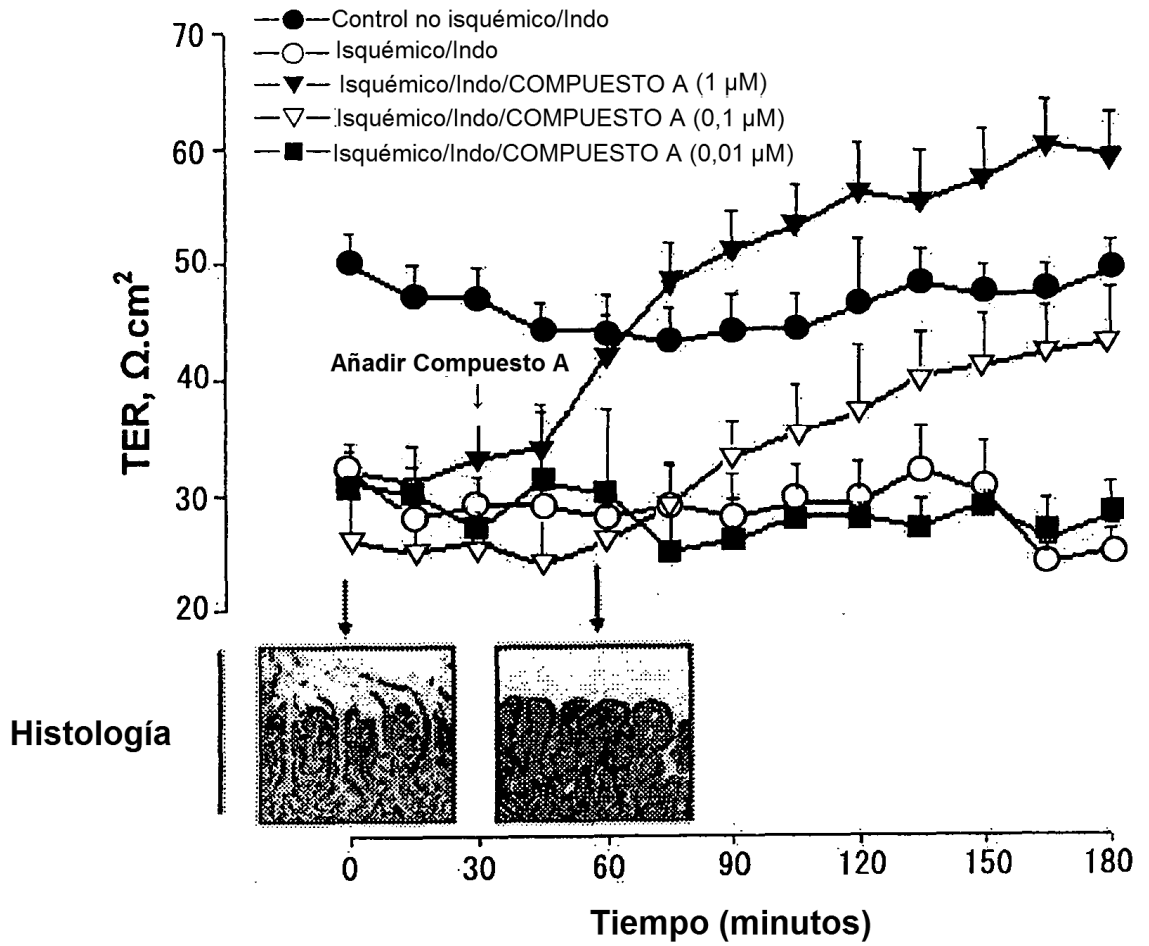


Fig. 2A

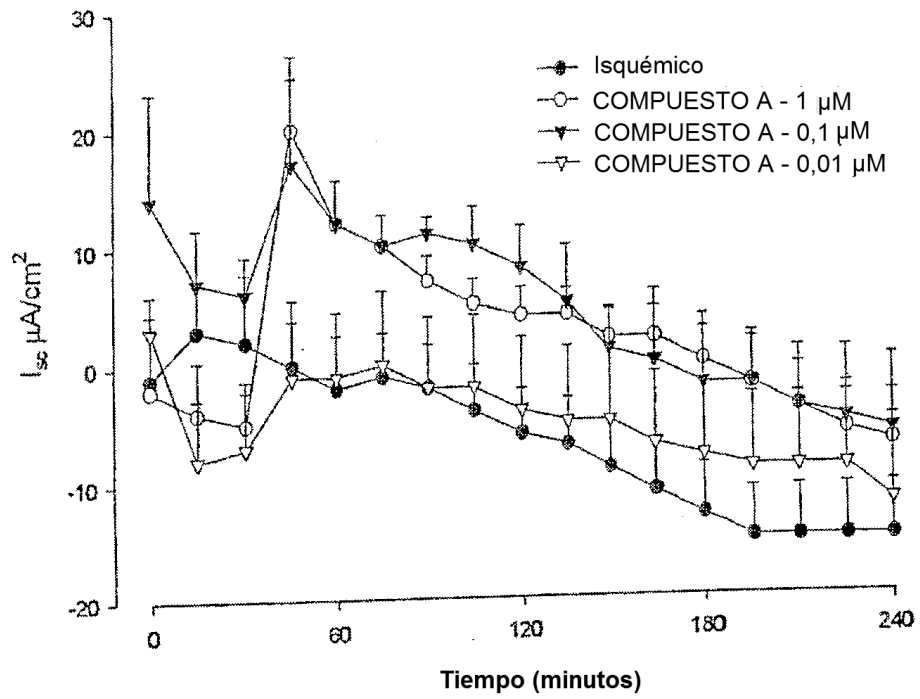


Fig. 2B

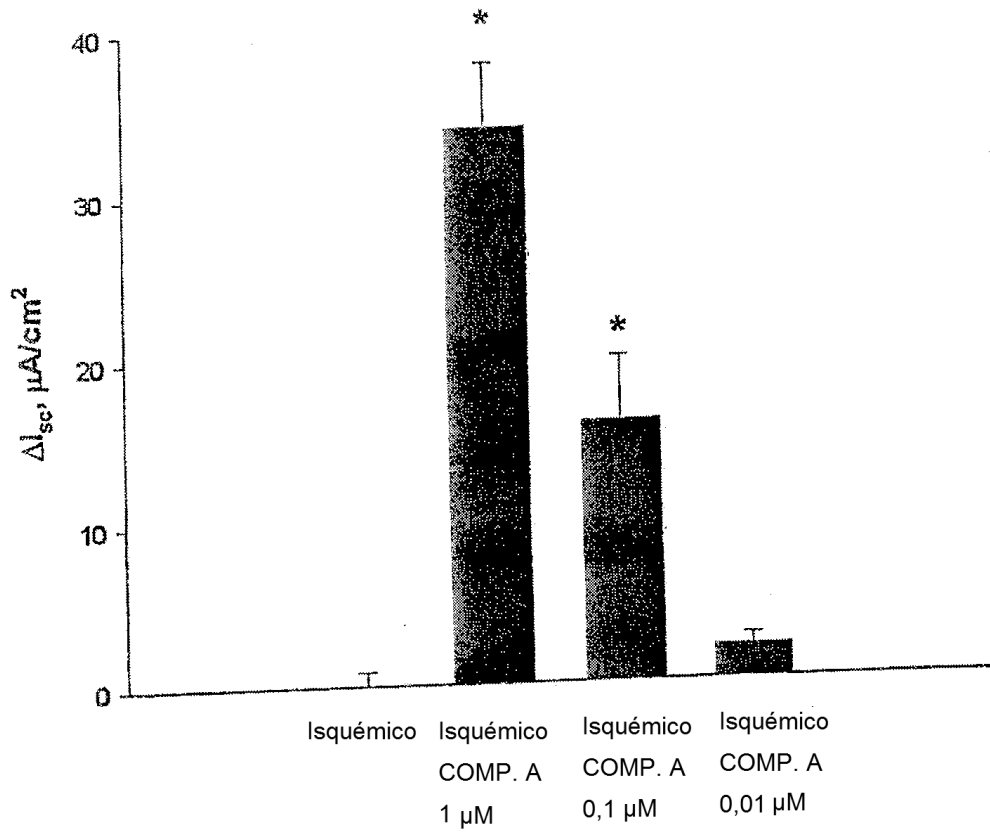


Fig.3

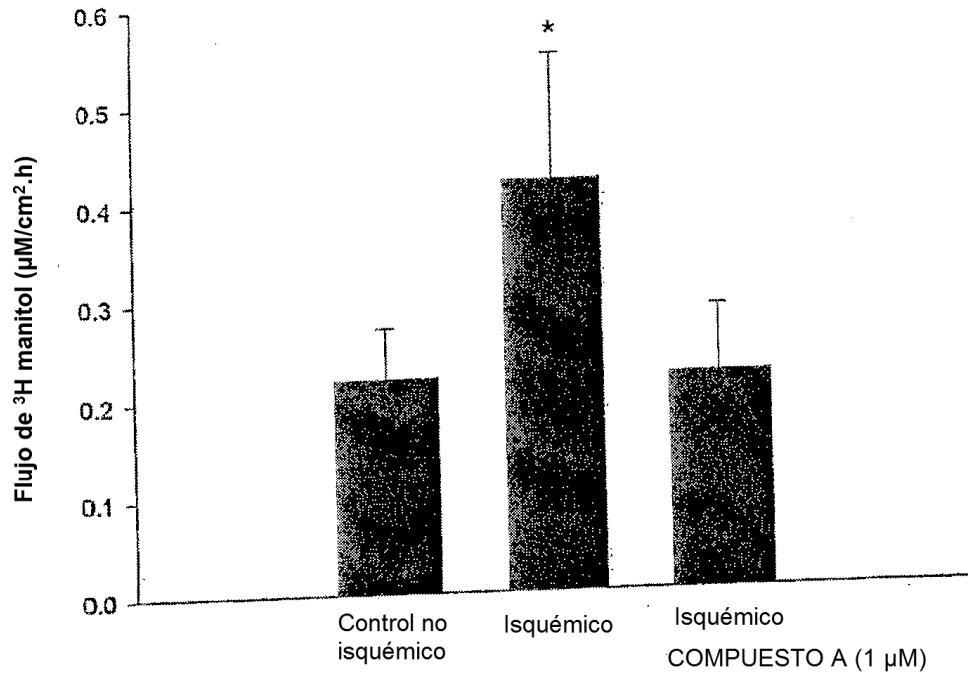


Fig. 4

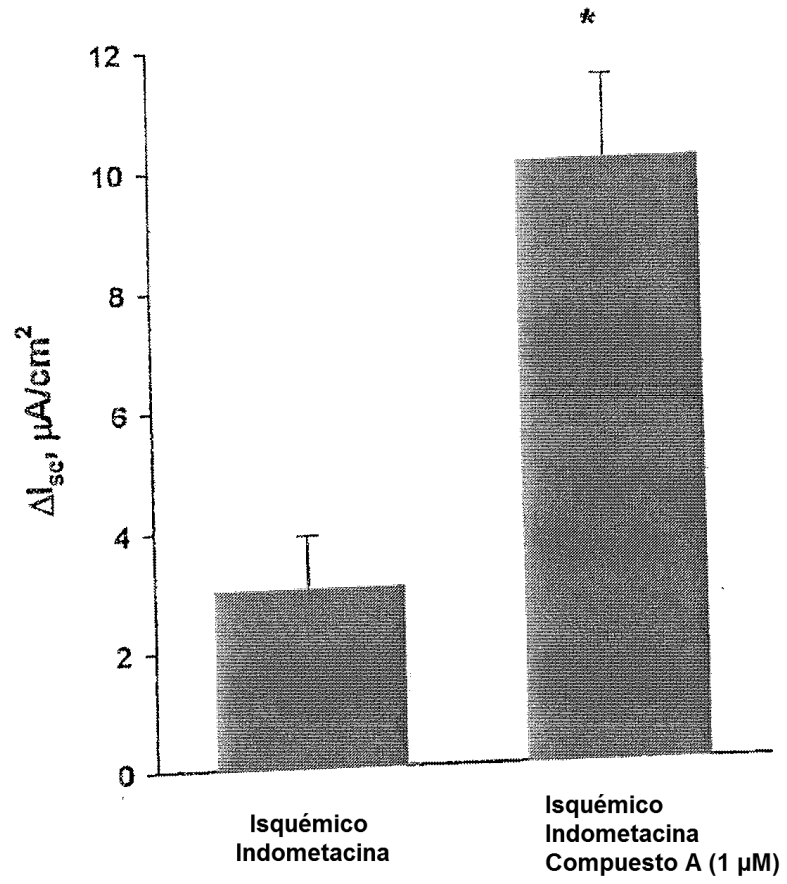


Fig. 5

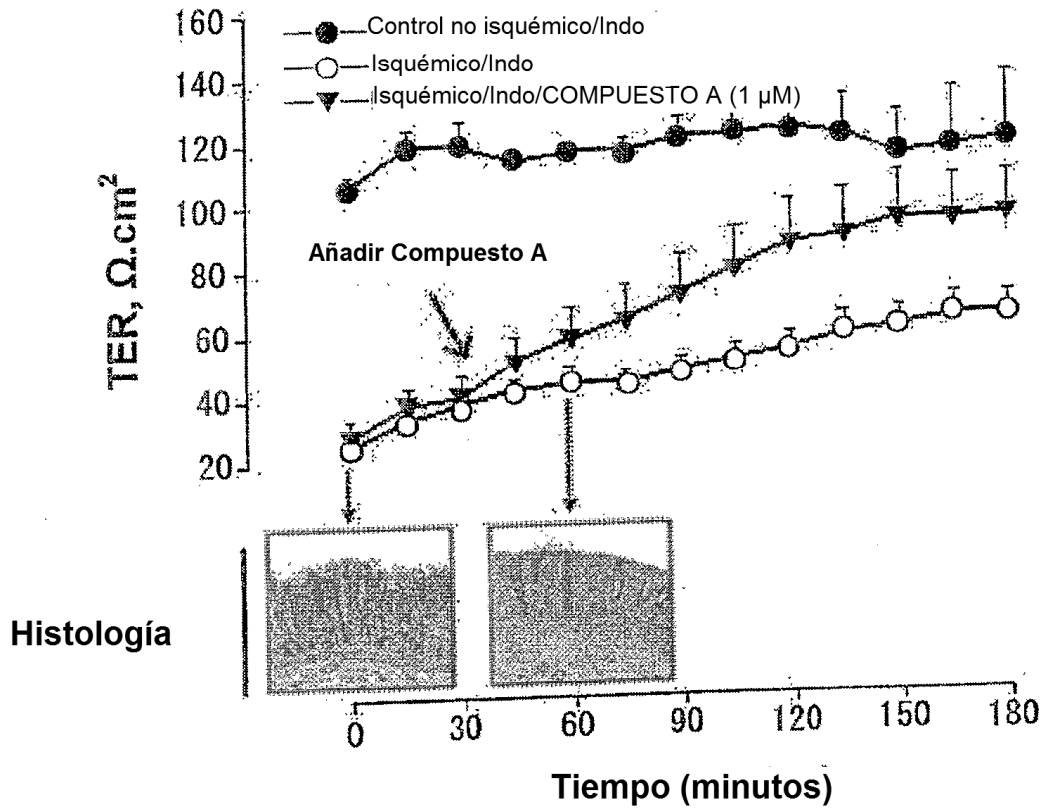


Fig. 6

