

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 377**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4164 (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.03.2012 PCT/KR2012/002310**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012 WO12134187**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2012 E 12764888 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2017 EP 2692345**

54 Título: **Composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular**

30 Prioridad:

30.03.2011 KR 20110028946

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.11.2017

73 Titular/es:

**KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL
TECHNOLOGY (50.0%)
100, Jang-dong
Yuseong-gu, Daejeon 305-343, KR y
CATHOLIC UNIVERSITY INDUSTRY ACADEMIC
COOPERATION FOUNDATION (50.0%)**

72 Inventor/es:

**YI, KYU-YANG;
YOO, SUNG-EUN;
KIM, NACK-JEONG;
SUH, JEE-HEE;
JOO, CHOUN-KI;
CHOI, JUN-SUB;
YANG, JAE-SIK;
LEE, GEUN-HYEOG;
CHO, YUN-SEOK;
PARK, JIN-HA y
LEE, HYE-SUNG**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 643 377 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende derivados de benzopirano sustituidos con aminos secundarias que incluyen imidazol; o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como principio activo.

Técnica anterior

10 El tejido nervioso localizado en el centro de la retina del ojo se llama una mácula. La mácula incluye la mayoría de las células fotorreceptoras que responden a los estímulos de la luz; y los aspectos de objetos se enfocan en el centro de la mácula. Por tanto, la mácula desempeña una función esencial en el mantenimiento de la vista. La degeneración macular senil (DMS) es una enfermedad crónica caracterizada por las degeneraciones en el epitelio pigmentario de la retina y la membrana de Bruch en la mácula, además del capilar coroideo. Anatómicamente, la retina sensorial está localizada enfrente del epitelio pigmentario de la retina. La nutrición, soporte, reciclaje y tratamiento de residuos de la retina sensorial dependen del epitelio pigmentario de la retina. La membrana de Bruch que tiene una estructura de cinco capas está intercalada entre el epitelio coroideo y el pigmentario de la retina. La capa más interna es una membrana basal del epitelio pigmentario de la retina; y la capa más externa es una membrana basal del epitelio coroideo. Es decir, la degeneración macular es una enfermedad degenerativa ocurrida en el complejo del epitelio pigmentario de la retina, la membrana de Bruch y el capilar coroideo.

20 Esta enfermedad, que se produce principalmente en edades de más de 50 años, es la causa principal de ceguera en la población de más de 60 años de edad en los países occidentales; y la tendencia de la misma también está aumentando en Corea. Aunque todavía no se ha aclarado la causa de la degeneración macular senil, los factores de riesgo incluyen edad (especialmente, se muestra un aumento brusco después de la edad de 75 años), tabaquismo (factor de riesgo medioambiental más notable), hipertensión arterial, obesidad, causa genética, excesiva exposición a UV, baja concentración en sangre de antioxidante, y similares.

25 En la degeneración macular, hay dos tipos, es decir, degeneración macular seca (no exudativa) y degeneración macular húmeda (exudativa). La degeneración macular seca (DMS seca, DMS no exudativa, o DMS no neovascular) está asociada con la formación de residuos de depósitos amarillos, conocidos como drusas, bajo la retina. La gran formación de drusas causa perturbaciones en la circulación sanguínea a la retina, especialmente a la mácula, que conduce a visión borrosa, provocando así alteración visual. Aunque la degeneración macular seca no produce una pérdida repentina de visión, puede desarrollarse en una degeneración macular húmeda. Bajo la retina, está el coroide que contiene un conjunto de vasos enterrados dentro del tejido fibroso y el epitelio pigmentario que cubre la capa coroidea. La degeneración macula húmeda (DMS húmeda, DMS exudativa, o DMS neovascular) está asociado con la angiogénesis del área coroide bajo la retina. El estallido de estos neovasos débiles produce hemorragia y exudación, que conduce a degeneración en el área macular de la retina, provocando así alteración visual. Debido a que la degeneración macular húmeda se desarrolla muy rápidamente, se sabe que la visión puede ser deteriorada en varias semanas; o que la pérdida de visión puede producirse entre 2 meses y 3 años.

40 Como terapia para la degeneración macular, están siendo actualmente usadas una terapia fotodinámica (PDT) y una terapia de inyección de anticuerpo contra el factor de crecimiento angiogénico. La terapia fotodinámica es un procedimiento que comprende inyectar un fotosensibilizador, Visudyne, a través de los vasos sanguíneos, seguido de irradiación del ojo con un láser específico reactivo solo al fotosensibilizador en el momento cuando el fotosensibilizador llega a los neovasos de la retina, de manera que destruye selectivamente los neovasos. Sin embargo, la terapia fotodinámica produce muchos casos recurrentes después del tratamiento, que requiere tratamientos repetitivos. Y, por lo tanto, existe el inconveniente que los tratamientos repetitivos producen daño de la propia retina. La terapia de inyección de anticuerpo es un procedimiento que inyecta directamente en la retina un anticuerpo anti-VEGF que inhibe la formación y proliferación de neovasos mediante la unión selectiva al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) crítico para la formación y progresión de neovasos. Como un fármaco de proteína usado en la terapia de inyección de anticuerpo, existe Lucentis y Avastin. Lucentis ha sido autorizado por la FDA como agente terapéutico de degeneración macular húmeda. Aunque Avastin está autorizado para tratar cáncer, está siendo clínicamente usado para tratar DMS húmeda.

50 La terapia de inyección de anticuerpo tiene algunos inconvenientes: por ejemplo, requiere alto coste terapéutico, administración local (especialmente administración directa en el ojo) e inyecciones repetidas. Por tanto, en términos de cumplimiento terapéutico del paciente con el fármaco, coste terapéutico, etc., existe una necesidad de desarrollar una formulación de colirio (no inyectable) basada en un compuesto sintético de bajo peso molecular.

Descripción detallada de la invención

55 PROBLEMA TÉCNICO

Los presentes inventores realizaron diversas investigaciones para desarrollar compuestos eficaces para prevenir y

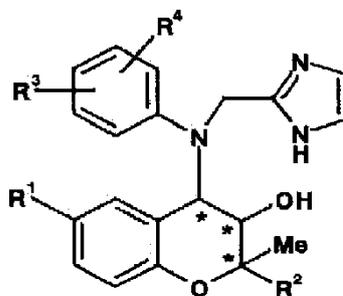
tratar degeneración macular. Como resultado, los presentes inventores descubrieron que ciertos derivados de benzopirano que tienen efectos terapéuticos para cáncer, artritis reumatoide, etc., previamente informados por los presentes inventores pueden prepararse como una formulación de colirio basada en un material de bajo peso molecular; y aplicarse útilmente para la prevención y el tratamiento de degeneración macular, sin inyectar directamente en el sitio afectado como en la terapia de inyección de anticuerpo. Derivados de benzopirano se desvelan en Park Shi-Young et al. (2008), documentos EP 1782812 y WO 2004/014898.

Por tanto, es un objeto de la presente invención proporcionar una composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende un cierto derivado de benzopirano como principio activo.

SOLUCIÓN TÉCNICA

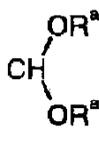
- 10 Según la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo para su uso en la prevención o el tratamiento de degeneración macular, en la que la composición farmacéutica es una formulación de colirio para administrar a la córnea de un ojo, para administrar el principio activo a la retina del ojo.
- 15 La presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende un compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como principio activo:

<Fórmula 1>



en la que

- 20 R¹ representa H, CN, NO₂ o NH₂,
R² representa



- 25 R³ y R⁴ son independientes entre sí y representan H, Cl, Br, F, alquilo C₁ ~ C₃ lineal o ramificado, OR^b, CF₃, OCF₃, NO₂ o CO₂R^b,
R^a representa alquilo C₁ ~ C₄ lineal o ramificado,
R^b representa H o alquilo C₁ ~ C₃, y
* representa el centro quiral.

- 30 La presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo.

La presente divulgación se refiere a una formulación de colirio para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo. La formulación de colirio puede tener una forma de solución o una forma de suspensión.

35 EFECTOS VENTAJOSOS

- Se descubrió recientemente por la presente divulgación que el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser útilmente aplicado a la prevención y el tratamiento de degeneración macular, la enfermedad degenerativa del capilar coroideo de la retina. Especialmente, se descubre por la presente invención que, cuando (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra a la córnea en forma

de colirios, se administra a la retina sin inhibir la regeneración normal de células epiteliales de la córnea. Por tanto, el compuesto de fórmula 1, que incluye (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede ser útilmente aplicado para prevenir o tratar degeneración macular en una formulación de colirio.

5 **Descripción de dibujos**

La FIG. 1 es los resultados (fotografías) obtenidos evaluando efectos inhibidores contra la angiogénesis de la córnea en modelos animales con daño de la córnea.

Las FIG. 2 y 3 son los resultados (gráficos) obtenidos evaluando efectos inhibidores contra la angiogénesis de la córnea en modelos animales con daño de la córnea.

10 La FIG. 4 es los resultados obtenidos evaluando efectos inhibidores contra la expresión del receptor 2 de VEGF (FLK-1).

La FIG. 5 es los resultados (fotografías) obtenidos evaluando efectos sobre la regeneración normal de las células epiteliales de la córnea.

15 La FIG. 6 es los resultados (gráficos) obtenidos evaluando efectos sobre la regeneración normal de las células epiteliales de la córnea.

La FIG. 7 es los resultados (fotografías) obtenidos evaluando efectos inhibidores contra la angiogénesis de la retina en ratas Brown Norway.

La FIG. 8 es los resultados (gráficos) obtenidos evaluando efectos inhibidores contra la angiogénesis de la retina en ratas Brown Norway.

20 La FIG. 9 es los resultados (fotografías) obtenidos evaluando efectos inhibidores contra la angiogénesis de la retina en minicerdos.

La FIG. 10 es los resultados (gráficos) obtenidos evaluando efectos inhibidores contra la angiogénesis de la retina en minicerdos.

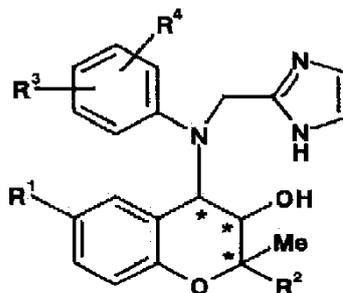
25 La FIG. 11 es los resultados (fotografías) obtenidos evaluando efectos inhibidores de la solución de colirio y la suspensión de colirio contra la angiogénesis de la retina.

La FIG. 12 es los resultados (gráficos) obtenidos evaluando efectos inhibidores de la solución de colirio y la suspensión de colirio contra la angiogénesis de la retina.

MEJOR MODO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

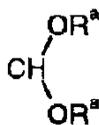
30 La presente divulgación describe una composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende un compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo:

<Fórmula 1>



en la que

35 R¹ representa H, CN, NO₂ o NH₂,
R² representa



40 R³ y R⁴ son independientes entre sí y representan H, Cl, Br, F, alquilo C₁ ~ C₃ lineal o ramificado, OR^b, CF₃, OCF₃, NO₂ o CO₂R^b,
R^a representa alquilo C₁ ~ C₄ lineal o ramificado,
R^b representa H o alquilo C₁-C₃, y
* representa el centro quiral.

En la composición farmacéutica de la presente divulgación, el compuesto de fórmula 1 puede seleccionarse del grupo que consiste en:

(2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(2-isopropilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano;
 (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-trifluorometoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano;
 5 (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-bromofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano; y
 (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-fluorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano.

10 Entre los compuestos de fórmula 1, el compuesto especialmente preferible es (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Por tanto, la presente divulgación se refiere a una composición farmacéutica para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo.

15 El compuesto de fórmula 1 puede usarse como una sal farmacéuticamente aceptable, que incluye, por ejemplo, una sal de adición de ácido derivada de ácidos libres farmacéuticamente aceptables, una sal de metal alcalino (sal de sodio, sal de potasio, etc.), y una sal de metal alcalinotérreo (sal de calcio, sal de magnesio, etc.). El ácido libre incluye un ácido inorgánico y un ácido orgánico. El ácido inorgánico incluye ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido perclórico, ácido fosfórico, etc. El ácido orgánico incluye ácido cítrico, ácido acético, ácido láctico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido metanosulfónico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido galacturónico, ácido embónico, ácido glutámico, ácido aspártico, ácido oxálico, ácido (D) o (L) málico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido malónico, etc. Ejemplos de las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de fórmula 1 incluyen acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edicilato, ecilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, famoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato, trifluoroacetato, sal de aluminio, sal de arginina, sal de benzatina, sal de calcio, sal de colina, sal de dietilamina, sal de diolamina, sal de glicina, sal de lisina, sal de magnesio, sal de meglumina, sal de olamina, sal de potasio, sal de sodio, sal de trometamina, sal de cinc, etc. Entre ellos, se prefieren clorhidrato y/o trifluoroacetato.

Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de fórmula 1 pueden prepararse según procedimientos convencionales. Por ejemplo, la sal de adición de ácido puede prepararse disolviendo el compuesto de fórmula 1 en un disolvente orgánico miscible en agua, tal como acetona, metanol, etanol o acetonitrilo; y entonces añadiendo un ácido orgánico en exceso o una solución acuosa de un ácido inorgánico, para precipitar o cristalizar la sal resultante. Posteriormente, la sal de adición de ácido puede aislarse evaporando el disolvente o el exceso de ácido y entonces secando el residuo resultante; o por filtración por aspiración de la sal precipitada.

Y, por tanto, el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo incluye sus isómeros, hidratos y solvatos.

40 El compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo muestra una actividad inhibitoria contra la angiogénesis de la córnea y actividad inhibitoria contra la expresión del marcador de angiogénesis de la córnea, FLK-1 (véanse las FIG. 1 a 4). La capacidad de curación normal (capacidad de regeneración) de células epiteliales de la córnea no es inhibida por la composición farmacéutica de la presente invención (véanse las FIG. 5 y 6). Y, por tanto, el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo muestra excelente actividad para prevenir o tratar degeneración macular, una enfermedad inducida por degeneración del capilar corioideo de la retina (véanse las FIG. 7 a 10). Especialmente, se encuentra que el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede prepararse en una forma de formulación de colirio externa administrable por vía tópica, que muestra excelente actividad para prevenir o tratar degeneración macular sin inyectar en el sitio afectado (véanse las FIG. 11 y 12). Además, se encuentra por la presente invención que, cuando la formulación de colirio se administra a la córnea, el principio activo es eficazmente administrado a la retina, mientras que solo una cantidad despreciable es absorbida absorbida en la sangre (véase la Tabla 1).

Por tanto, la presente divulgación se refiere a una formulación de colirio para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende un compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo. En particular, la presente divulgación se refiere a una formulación de colirio para prevenir o tratar degeneración macular, que comprende (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo. La formulación de colirio puede tener una forma de solución o una forma de suspensión.

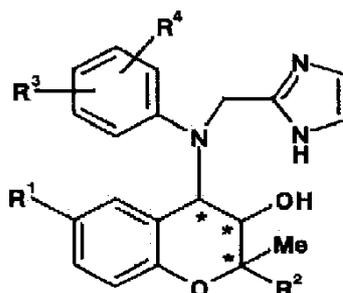
Por ejemplo, una formulación de colirio en una forma de solución puede comprender un solubilizante tal como polietilenglicol 400, glicerina, etc.; un estabilizador tal como EDTA etc.; un agente de tamponamiento tal como ácido bórico etc.; un agente de control del pH tal como ácido clorhídrico, hidróxido sódico, etc., además del compuesto de

fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o su sal). Y, por tanto, una formulación de colirio en una forma de suspensión puede comprender un agente de control de la viscosidad tal como polivinilpirrolidona reticulada (por ejemplo, povidona K-25) etc.; un agente isotónico tal como cloruro sódico, etc.; un estabilizador tal como EDTA etc.; un agente de tamponamiento tal como ácido bórico, bórax, etc.; un agente de control del pH tal como ácido clorhídrico, hidróxido sódico, etc., además del compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (por ejemplo, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o su sal). Si fuera necesario, la composición farmacéutica en la forma de formulación de colirio puede esterilizarse según procedimientos convencionales; o comprender además un agente suplementario tal como un conservante, un agente hidratante, un emulsionante, un agente solubilizante, una sal para controlar la presión osmótica y/o un agente de tamponamiento.

En la composición farmacéutica de la presente divulgación, el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede administrarse en una cantidad de normalmente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/día, preferentemente 0,03 a 80 mg/día basado en adultos que tienen 70 kg de peso corporal, aunque la cantidad puede cambiarse según la edad del paciente, peso corporal, sexo, forma de dosificación, condición de salud, gravedad de la enfermedad, etc. La administración puede llevarse a cabo en un intervalo apropiado, por ejemplo, en una dosis única o en dosis divididas por día, según las instrucciones del médico o farmacéutico.

La presente divulgación se refiere al uso de un compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar degeneración macular:

<Fórmula 1>

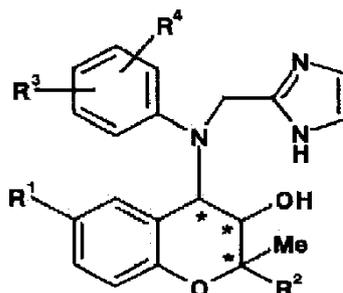


en la que R¹, R², R³ y R⁴ son los mismos como se definió anteriormente; y * representa el centro quiral.

En la presente divulgación, el compuesto de fórmula 1 puede ser preferentemente (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano. El medicamento puede tener una forma de solución o una forma de suspensión. En la presente divulgación, el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede administrarse en una cantidad de normalmente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/día, preferentemente 0,03 a 80 mg/día basado en adultos que tienen 70 kg de peso corporal, aunque la cantidad puede cambiarse según la edad del paciente, peso corporal, sexo, forma de dosificación, condición de salud, gravedad de la enfermedad, etc. La administración puede llevarse a cabo en un intervalo apropiado, por ejemplo, en una dosis única o en dosis divididas por día, según las instrucciones del médico o farmacéutico.

La presente divulgación se refiere a un procedimiento para prevenir o tratar degeneración macular en un paciente, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo al paciente en necesidad del mismo:

<Fórmula 1>



en la que R¹, R², R³ y R⁴ son los mismos como se definió anteriormente; y * representa el centro quiral.

En el procedimiento para prevenir o tratar degeneración macular de la presente divulgación, el compuesto de fórmula 1 puede ser preferentemente (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano. El compuesto puede administrarse en una formulación de colirio que tiene una forma de solución o una forma de suspensión. En el procedimiento para prevenir o tratar degeneración macular de la presente divulgación, el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede administrarse en una cantidad de normalmente aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/día, preferentemente 0,03 a 80 mg/día basado en adultos con 70 kg de peso corporal, aunque la cantidad puede cambiarse según la edad del paciente, peso corporal, sexo, forma de dosificación, condición de salud, gravedad de la enfermedad, etc. La administración puede llevarse a cabo en un intervalo apropiado, por ejemplo, en una dosis única o en dosis divididas por día, según las instrucciones del médico o farmacéutico.

La presente divulgación se describirá en más detalle con referencia a los siguientes ejemplos de preparación y ejemplos. Estos ejemplos de preparación y ejemplos son para fines ilustrativos solo y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplo de preparación 1: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se disolvieron el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (437 mg, 1,55 mmoles) y (4-clorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (323 mg, 1,55 mmoles) en acetonitrilo (2 ml). A la solución resultante se añadió anhídrido cloruro de cobalto (CoCl₂) (202 mg, 1,55 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 10 horas; y entonces se añadió una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (5 ml) a la mezcla, que se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, y entonces se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo=2:1) dando el compuesto del título (304 mg, 40 %).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,49 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 3,63 (s, 3H), 4,32 (m, 1H), 4,57 (s, 1H), 5,14 (s a, 1H), 6,75 (s a, 2H), 6,97 (m, 4H), 7,27 (m, 2H), 7,93 (s, 1H), 8,08 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 2: Preparación de (2S,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (76 mg, 34 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (129 mg, 0,46 mmoles) y (4-clorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (95 mg, 0,46 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,66 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,87 (s a, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,29 (d, 1H), 4,43 (d, 1H), 4,64 (s, 1H), 5,64 (d, 1H), 6,83 (d, 2H), 6,95 (m, 4H), 7,15 (d, 2H), 7,86 (s, 1H), 8,06 (m, 2H), 8,41 (s, 1H).

Ejemplo de preparación 3: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (2,13 g, 64 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (1,038 g, 3,7 mmoles) y (4-clorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (766 mg, 3,7 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,49 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 4,32 (m, 1H), 4,57 (s, 1H), 5,14 (s a, 1H), 6,75 (s a, 2H), 6,97 (m, 4H), 7,27 (m, 2H), 7,93 (s, 1H), 8,08 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 4: Preparación de (2R,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (269 mg, 63 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (250 mg, 0,88 mmoles) y (4-clorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (183 mg, 0,88 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,66 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,87 (s a, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,29 (d, 1H), 4,43 (d, 1H), 4,64 (s, 1H), 5,64 (d, 1H), 6,83 (d, 2H), 6,95 (m, 4H), 7,15 (d, 2H), 7,86 (s, 1H), 8,06 (m, 2H), 8,41 (s, 1H).

Ejemplo de preparación 5: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(4-trifluorometilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (146 mg, 22 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (356 mg, 1,26 mmoles) y (4-trifluorometilfenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (305 mg, 1,26 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,51 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 3,61 (s, 3H), 4,32 (m, 3H), 4,57 (s, 1H), 5,14 (s a, 1H), 6,85 (m, 2H), 6,95 (m, 4H), 7,38 (d, 2H), 7,91 (s, 1H), 8,05 (dd, 2H), 8,42 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 6: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(4-metoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

5 Se preparó el compuesto del título (280 mg, 28 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (591 mg, 2,10 mmoles) y (4-metoxifenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (427 mg, 2,10 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,47 (s, 3H), 3,59 (d, 6H), 3,68 (s, 3H), 4,30 (m, 2H), 4,54 (m, 2H), 5,02 (d, 1H), 6,67-6,78 (m, 4H), 6,89-7,26 (m, 3H), 8,04 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 7: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(4-trifluorometoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

10 Se preparó el compuesto del título (181 mg, 47 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (200 mg, 0,71 mmoles) y (4-trifluorometoxifenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (183 mg, 0,71 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,50 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 4,2-4,50 (m, 2H), 4,58-5,65 (m, 2H), 5,18 (s, 1H), 6,91-6,95 (m, 7H), 8,00 (s, 1H), 8,05 (dd, 1H).

Ejemplo de preparación 8: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(4-bromofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (310 mg, 41 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (400 mg, 1,42 mmoles) y (4-bromofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (359 mg, 1,42 mmoles).

20 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,48 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,10-4,19 (m, 2H), 4,20-4,40 (m, 2H), 5,13 (s, 1H), 6,70-7,01 (m, 6H), 7,21 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 8,06 (dd, 1H).

Ejemplo de preparación 9: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(2,4-dimetilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

25 Se preparó el compuesto del título (231 mg, 33 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (400 mg, 1,42 mmoles) y (2,4-dimetilfenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (287 mg, 1,42 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,39 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,47 (s, 3H), 3,59 (d, 6H), 4,15-4,82 (m, 5H), 6,80-6,89 (m, 5H), 7,58 (d, 1H), 7,94-7,99 (dd, 1H), 8,62 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 10: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(2-isopropilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (140 mg, 20 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (400 mg, 1,42 mmoles) y (2-isopropilfenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (306 mg, 1,42 mmoles).

35 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,22-1,29 (m, 10H), 3,60 (d, 6H), 4,07-4,63 (m, 5H), 6,79-7,35 (m, 6H), 7,78 (m, 1H), 7,99 (dd, 1H), 8,61 (m, 1H)

Ejemplo de preparación 11: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(2,3-dimetilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

40 Se preparó el compuesto del título (253 mg, 37 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (400 mg, 1,42 mmoles) y (2,3-dimetilfenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (287 mg, 1,42 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,39 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,26-4,74 (m, 5H), 6,76-6,95 (m, 4H), 6,98 (m, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,95 (dd, 1H), 8,63 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 12: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(2,3-dimetilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

45 Se preparó el compuesto del título (416 mg, 49 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (500 mg, 1,77 mmoles) y (2,3-dimetilfenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (358 mg, 1,77 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,39 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,26-4,74 (m, 5H), 6,76-6,95 (m, 4H), 6,98 (m, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,95 (dd, 1H), 8,63 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 13: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(4-bromofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

5 Se preparó el compuesto del título (570 mg, 60 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (500 mg, 1,78 mmoles) y (4-bromofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (450 mg, 1,78 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,48 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,10-4,19 (m, 2H), 4,20-4,40 (m, 2H), 5,13 (s, 1H), 6,70-7,01 (m, 6H), 7,21 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 8,06 (dd, 1H).

Ejemplo de preparación 14: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(4-metoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

10 Se preparó el compuesto del título (446 mg, 86 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (300 mg, 1,06 mmoles) y (4-metoxifenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (216 mg, 1,06 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,47 (s, 3H), 3,59 (d, 6H), 3,68 (s, 3H), 4,30 (m, 2H), 4,54 (m, 2H), 5,02 (d, 1H), 6,67-6,78 (m, 4H), 6,89-7,26 (m, 3H), 8,04 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 15: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(4-fluorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (650 mg, 48 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (800 mg, 2,84 mmoles) y (4-fluorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (380 mg, 1,8 mmoles).

20 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,49 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 4,30 (m, 2H), 4,60 (m, 2H), 5,05 (m, 1H), 6,76-6,97 (m, 7H), 7,95 (s, 1H), 8,03 (dd, 1H)

Ejemplo de preparación 16: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(2-metoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

25 Se preparó el compuesto del título (500 mg, 58 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (500 mg, 1,78 mmoles) y (2-metoxifenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (253 mg, 1,25 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,38 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 3,91 (s, 3H), 3,97 (m, 1H), 4,74 (d, 1H), 4,60-4,84 (m, 3H), 6,80-7,03 (m, 6H), 7,58 (m, 1H), 7,99 (dd, 1H), 8,86 (m, 1H)

Ejemplo de preparación 17: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(2-isopropilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (72 mg, 42 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (100 mg, 0,35 mmoles) y (2-isopropilfenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (75 mg, 0,35 mmoles).

35 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,22-1,29 (m, 10H), 3,60 (d, 6H), 4,07-4,63 (m, 5H), 6,79-7,35 (m, 6H), 7,78 (m, 1H), 7,99 (dd, 1H), 8,61 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 18: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(2-metoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

40 Se preparó el compuesto del título (580 mg, 67 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (500 mg, 1,78 mmoles) y (2-metoxifenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (231 mg, 1,78 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,38 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 3,91 (s, 3H), 3,97 (m, 1H), 4,74 (d, 1H), 4,60-4,84 (m, 3H), 6,80-7,03 (m, 6H), 7,58 (m, 1H), 7,99 (dd, 1H), 8,86 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 19: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(3-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

45 Se preparó el compuesto del título (337 mg, 39 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (500 mg, 1,77 mmoles) y (3-clorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (366 mg, 1,77 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,51 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,20-4,57 (m, 2H), 4,57-4,59 (m, 2H), 5,17 (s, 1H), 6,69-6,73 (m, 3H), 6,94-7,01 (m, 4H), 7,89 (m, 1H), 8,04 (dd, 1H).

Ejemplo de preparación 20: Preparación de (2S,3S,4R)-6-nitro-4-[N-(3-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

5 Se preparó el compuesto del título (280 mg, 35 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (450 mg, 1,6 mmoles) y (3-clorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (232 mg, 1,1 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,51 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,20-4,57 (m, 2H), 4,57-4,59 (m, 2H), 5,17 (s, 1H), 6,69-6,73 (m, 3H), 6,94-7,01 (m, 4H), 7,89 (m, 1H), 8,04 (dd, 1H).

Ejemplo de preparación 21: Preparación de (2R,3R,4S)-6-nitro-4-[N-(4-trifluorometoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

10 Se preparó el compuesto del título (155 mg, 40 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2R,3R,4R)-6-nitro-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (200 mg, 0,71 mmoles) y (4-trifluorometoxifenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina 183 mg (0,71 mmoles).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,49 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 4,20-4,50 (m, 2H), 4,58-5,65 (m, 2H), 5,18 (s, 1H), 6,91-6,95 (m, 7H), 7,99 (s, 1H), 8,04 (dd, 1H).

Ejemplo de preparación 22: Preparación de (2S,3S,4R)-6-ciano-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

15 Se preparó el compuesto del título (106 mg, 28 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 1, usando el compuesto de epóxido (2S,3S,4S)-6-ciano-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-epoxi-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (210 mg, 0,8 mmoles) y (4-clorofenil)(1H-imidazol-2-ilmetil)amina (167 mg, 0,8 mmoles).

20 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,47 (s, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 4,35 (m, 1H), 4,57 (s, 1H), 5,16 (s a, 1H), 6,81-6,93 (m, 3H), 7,17 (d, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,51 (dd, 1H).

Ejemplo de preparación 23: Preparación de (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

25 Se disolvió el compuesto de nitro (521 mg, 1,07 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 3 en metanol (3 ml); y entonces se añadió 10 % de Pd/C (50 mg) al mismo. La mezcla se hidrogenó bajo presión de H₂ de 3 atmósferas durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite para eliminar un sólido; y el filtrado se concentró. El residuo resultante se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice (metanol:diclorometano = 5:95) dando el compuesto del título (368 mg, 75 %).

30 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,42 (s, 3H), 3,61 (s, 6H), 4,27 (m, 2H), 4,42 (s, 1H), 4,52 (d, 1H), 5,24 (m, 1H), 6,29 (s, 1H), 6,58 (d, 2H), 6,70 (d, 2H), 6,98 (m, 3H), 7,41 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 24: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

35 Se disolvió el compuesto de nitro (177 mg, 0,36 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 1 en metanol (2 ml); y entonces se añadió una solución acuosa 0,4 M de Cu(OAc)₂ (0,38 ml, 0,15 mmoles) al mismo. Se añadió lentamente borohidruro de sodio (113 mg, 3,0 mmoles) a temperatura ambiente durante 10 minutos a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó durante una hora; y entonces se añadió acetato de etilo (5 ml) a la misma. Los precipitados negros se eliminaron por filtración; y entonces se añadió una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (5 ml) al filtrado. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y entonces se concentró a vacío para eliminar el disolvente. El residuo resultante se purificó con cromatografía en columna de gel de sílice (n-hexano:acetato de etilo = 1:4) dando el compuesto del título (58 mg, 35 %).

40 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,42 (s, 3H), 3,61 (s, 6H), 4,27 (m, 2H), 4,52 (d, 1H), 4,42 (s, 1H), 5,24 (m, 1H), 6,29 (s, 1H), 6,58 (d, 2H), 6,70 (d, 2H), 6,98 (m, 3H), 7,41 (m, 2H).

Ejemplo de preparación 25: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-trifluorometilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

45 Se preparó el compuesto del título (34 mg, 57 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 24, usando el compuesto de nitro (65 mg, 0,12 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 5.

50 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,38 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 4,06-4,85 (m, 3H), 4,41 (s, 1H), 5,06 (s a, 2H), 6,31 (s, 1H), 6,57 (d, 2H), 6,80-7,18 (m, 7H)

Ejemplo de preparación 26: Preparación de (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-trifluorometoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

5 Se preparó el compuesto del título (23 mg, 24 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (100 mg, 0,19 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 21.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,50 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 4,20-4,50 (m, 2H), 4,59 (s, 2H), 5,18 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 6,60 (dd, 2H), 6,70-6,96 (m, 6H)

Ejemplo de preparación 27: Preparación de (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(2,3-dimetilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

10 Se preparó el compuesto del título (19 mg, 15 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (135 mg, 0,28 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 12.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,29 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 3,60 (s, 6H), 4,41-4,63 (m, 5H), 6,57 (dd, 1H), 6,70-7,19 (m, 6H), 7,40 (d, 1H)

Ejemplo de preparación 28: Preparación de (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-metoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

15 Se preparó el compuesto del título (21 mg, 23 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (100 mg, 0,21 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 14.

20 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,36 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 3,64 (s, 3H), 4,20-4,60 (m, 3H), 4,45 (s, 1H), 4,70-4,90 (m, 2H), 6,50 (m, 1H), 6,70 (dd, 1H), 6,80-7,00 (m, 6H), 7,40 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 29: Preparación de (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-bromofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

25 Se preparó el compuesto del título (50 mg, 53 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (100 mg, 0,19 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 13.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,48 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,10-4,19 (m, 2H), 4,22 (s, 2H), 5,13 (s, 1H), 6,33-7,15 (m, 9H).

Ejemplo de preparación 30: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(2,3-dimetilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

30 Se preparó el compuesto del título (35 mg, 54 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (70 mg, 0,14 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 11.

35 RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,29 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 3,60 (s, 6H), 4,41-4,63 (m, 5H), 6,57 (dd, 1H), 6,70-7,19 (m, 6H), 7,40 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 31: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(2-metoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

40 Se preparó el compuesto del título (74 mg, 66 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (80 mg, 0,16 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 16.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,30 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 3,80 (s, 3H), 4,10-4,30 (m, 2H), 4,45 (s, 1H), 4,70-4,90 (m, 2H), 6,50 (dd, 1H), 6,70-7,00 (m, 7H), 7,40 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 32: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-metoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

45 Se preparó el compuesto del título (74 mg, 77 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (103 mg, 0,21 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 6.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,36 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 3,64 (s, 3H), 4,20-4,60 (m, 3H), 4,45 (s, 1H), 4,70-4,90 (m, 2H), 6,50 (m, 1H), 6,70 (dd, 1H), 6,80-7,00 (m, 6H), 7,40 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 33: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(2,4-dimetilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (54 mg, 67 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (86 mg, 0,18 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 9.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,26 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 3,58 (s, 6H), 4,36-4,54 (m, 3H), 4,60 (m, 2H), 6,56 (dd, 1H), 6,70 (dd, 1H), 6,80-7,15 (m, 6H), 7,36 (d, 1H).

Ejemplo de preparación 34: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(2-isopropilfenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (30 mg, 73 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (45 mg, 0,09 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 10.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,22-1,29 (m, 9H), 3,60 (d, 6H), 4,10-4,62 (m, 5H), 6,50-6,77 (m, 2H), 6,85-7,30 (m, 6H), 7,60 (m, 1H).

Ejemplo de preparación 35: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-trifluorometoxifenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (34 mg, 72 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (50 mg, 0,10 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 7.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,50 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 4,20-4,50 (m, 2H), 4,59 (s, 2H), 5,18 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 6,60 (dd, 2H), 6,70-6,96 (m, 6H).

Ejemplo de preparación 36: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-bromofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (41 mg, 88 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (50 mg, 0,10 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 8.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,48 (s, 3H), 3,61 (d, 6H), 4,10-4,19 (m, 2H), 4,22 (s, 2H), 5,13 (s, 1H), 6,33-7,15 (m, 9H).

Ejemplo de preparación 37: Preparación de (2S,3S,4R)-6-amino-4-[N-(4-fluorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano

Se preparó el compuesto del título (44 mg, 95 %) según los mismos procedimientos que en el Ejemplo de preparación 23, usando el compuesto de nitro (50 mg, 0,10 mmoles) preparado a partir del Ejemplo de preparación 15.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 1,49 (s, 3H), 3,60 (d, 6H), 4,30 (m, 4H), 4,98 (s, 1H), 6,33 (s, 1H), 6,55 (dd, 2H), 6,60-6,92 (m, 6H).

Ejemplo 1. Evaluación de efectos inhibidores contra la angiogénesis en modelos animales que tienen daño de la córnea

Las pruebas se realizaron usando ratas Sprague Dawley (8 semanas de edad, macho) como animales que tienen daño de la córnea (15 ratas para el grupo de experimento; y 1 rata para el grupo normal, respectivamente). El daño de la córnea se indujo aplicando una torunda de algodón recubierta con nitrato de plata a la superficie de las córneas de la rata, como para inducir un daño que tiene un diámetro de 2 mm en la córnea central. En el tercer día después de inducir el daño de las córneas, los presentes inventores confirmaron el establecimiento de modelos de inducción de angiogénesis de la córnea y entonces inyectaron por vía subconjuntival una solución (20 µl) preparada disolviendo el compuesto del Ejemplo de preparación 23, es decir, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano (KR-31831) en solución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía 10 % de PEG 400, a la concentración de 0,3 mg/ml. En caso del grupo de control, la PBS (20 µl) que contenía 10 % de PEG 400 se inyectó por vía subconjuntival. Como control positivo, se inyectó por vía subconjuntival una solución (20 µl) preparada disolviendo Avastin (usado como inhibidor de la angiogénesis) en PBS en la concentración de 10 mg/ml. 1 semana después de las administraciones de fármaco, las fotografías de la angiogénesis de la córnea se mostraron en la FIG. 1. Se realizaron las evaluaciones que cuantifican las fotografías de la FIG. 1 usando el programa Imagen J (NIH, EE.UU.) y los resultados de las mismas se mostraron en la FIG. 2.

Como se muestra en la FIG. 1, los modelos animales inyectados con el compuesto de la presente invención mostraron la angiogénesis de la córnea más baja que el grupo de control inyectado con PBS y el grupo positivo inyectado con Avastin. Y, por tanto, como se muestra en la FIG. 2, el grupo administrado con el compuesto de la presente invención (KR) y el grupo administrado con Avastin (Ava), respectivamente, mostraron $52,6 \pm 10 \%$ y $66,4 \pm 10,6 \%$ de angiogénesis de la córnea, en comparación con la angiogénesis de la córnea (100%) del grupo de control (Cont). Por tanto, puede observarse que, incluso cuando el compuesto de la presente invención se administró a una concentración más baja que Avastin, tiene efecto inhibitor superior contra la angiogénesis de la córnea (FIG. 2).

Ejemplo 2. Evaluación de los efectos inhibidores contra la angiogénesis en modelos animales que tienen daño de la córnea

Excepto por la realización de tanto la inyección por vía subconjuntival como la administración de colirio de (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano y Avastin, los efectos inhibidores contra la angiogénesis se evaluaron según los mismos modos que en el Ejemplo 1. Para la inyección por vía subconjuntival, los presentes inventores usaron una solución ($20 \mu\text{l}$) preparada disolviendo (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano en PBS que contenía 10% de PEG 400, a la concentración de $0,3 \text{ mg/ml}$; y una solución ($20 \mu\text{l}$) preparada disolviendo Avastin en PBS a la concentración de 10 mg/ml . Y, por tanto, para la administración de colirio, los presentes inventores usaron cada solución ($50 \mu\text{l}$, una gota) preparada disolviendo cada fármaco en PBS que contenía 30% en peso de PEG (polietilenglicol 400) y 10% en peso de DMSO (dimetilsulfóxido) a las mismas concentraciones del mismo modo como se mencionó anteriormente; y entonces ajustando el pH de la solución resultante a pH 7 con ácido clorhídrico. Los resultados del mismo se muestran en la FIG. 3.

Como se muestra en la FIG. 3, en comparación con la angiogénesis (100%) del grupo de control (Cont), se mostró $29,3 \pm 8,6 \%$ de angiogénesis en caso del grupo administrado con Avastin (Ava); y se mostró $25,1 \pm 10,8 \%$ de angiogénesis en caso del grupo administrado con el compuesto de la presente invención (KR). Puede observarse que, incluso cuando el compuesto de la presente invención se usó a una concentración más baja que Avastin, tiene efecto inhibitor superior contra la angiogénesis (FIG. 3), que es el mismo que en el Ejemplo 1.

Ejemplo 3. Medición de la expresión de un receptor 2 de VEGF (FLK-1)

Las pruebas se realizaron para confirmar la angiogénesis de la córnea como marcador. A una solución de Trizole™ ($200 \mu\text{l}$) se añadieron cada tejido de la córnea obtenido de las ratas del Ejemplo 1. Se aislaron ARN totales y entonces se prepararon ADNc usando una transcriptasa inversa. Cada ADNc ($5 \mu\text{l}$) se mezcló con el primer conjunto de FLK-1 y luego se realizó amplificación por PCR en un ciclador térmico bajo las siguientes condiciones; desnaturalización a $94 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 minutos, y entonces 35 ciclos de desnaturalización a $94 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 segundos, hibridación a $58 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 minuto, y extensión a $72 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 25 segundos. Cada producto de PCR se cargó en 1% de gel de agarosa; y se identificaron las bandas fluorescentes de bromuro de etidio resultantes. Los resultados del mismo se mostraron en la FIG. 4.

Como se muestra en la FIG. 4, puede observarse que el grupo (KR) inyectado por vía subconjuntival con una solución ($20 \mu\text{l}$) del compuesto de la presente invención, es decir, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano en la concentración de $0,3 \text{ mg/ml}$, mostró sorprendentemente baja expresión de FLK-1 (aproximadamente del 30%) en la córnea, en comparación con la expresión de FLK-1 en la córnea (100%) en caso del grupo de control (No) inyectado con PBS ($20 \mu\text{l}$) y la expresión de FLK-1 en la córnea (aproximadamente el 59%) en caso del grupo (Avastin) inyectado con Avastin ($20 \mu\text{l}$) a la concentración de 10 mg/ml .

Ejemplo 4. Evaluación de efectos sobre la regeneración normal de células epiteliales de la córnea en modelos animales

Se establecieron modelos animales que tenían daño en las células epiteliales de la córnea anestesiando ratas (8 semanas de edad, 200 g a 250 g) con una solución mixta de rompun y zoletil (1 ml/kg) y luego raspando las células epiteliales de la córnea en el centro de la córnea en una forma circular que tenía 2 mm de diámetro con un bisturí quirúrgico. La eliminación de células epiteliales de la córnea se confirmó con una solución al 1% de fluoresceína. La formulación de colirio ($50 \mu\text{l}$) usada en el Ejemplo 2 se administró dos veces al día, es decir, cada 12 horas. Se mostraron las córneas 0 horas, 18 horas, 36 horas después de la administración en la FIG. 5. Se realizaron evaluaciones que cuantifican las fotografías de la FIG. 5 usando el programa Imagen J (NIH, EE.UU.) y los resultados de las mismas se mostraron en la FIG. 6.

Como se muestra en las FIG. 5 y 6, cuando cada tamaño de daño epitelial de la córnea se comparó con la córnea completa, el grupo de control (Control) mostró $51 \pm 9 \%$ de tasa de curación 0 horas después de la administración, $54 \pm 10 \%$ de tasa de curación 18 horas después de la administración y $92 \pm 6 \%$ de tasa de curación 36 horas después de la administración, respectivamente; y el grupo (colirio de KR) administrado con la formulación de colirio que contenía el compuesto de la presente invención, es decir, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-

imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano, mostró $52 \pm 9\%$ de tasa de curación 0 horas después de la administración, $55 \pm 9\%$ de tasa de curación 18 horas después de la administración y $94 \pm 8\%$ de tasa de curación 36 horas después de la administración, respectivamente. Por tanto, puede observarse que la tasa de curación normal de células epiteliales de la córnea no es inhibida por la formulación de colirio que contiene el compuesto de la presente invención.

Ejemplo 5. Observación de efectos terapéuticos de degeneración macular en modelos animales que tienen daño de la retina

Las pruebas se realizaron usando ratas Brown Norway (8 semanas de edad, macho) como animales que tienen daño de la retina (15 ratas para el grupo de experimento; y 1 rata para el grupo normal, respectivamente). La membrana de Bruch de la retina de cada rata Brown Norway se dañó usando un láser Zeiss 532s a la intensidad de 200 mV, 30 ms. En el tercer día después del daño por láser, el fármaco se administró en el humor vítreo con el fin de observar los vasos de la retina. El compuesto de la presente invención, es decir, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano, se administró con las soluciones (10 μ l de cada solución) obtenidas disolviendo en PBS que contenía 30 % de PEG 400 y 10 % de DMSO, a las concentraciones de 0,1 mg/ml y 0,3 mg/ml. Se administró Avastin con la solución (10 μ l) obtenida disolviendo en PBS a la concentración de 2,5 mg/ml. En caso del grupo de control, se administró PBS (10 μ l). Además, se administró por vía intraperitoneal (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano con la solución obtenida disolviendo en PBS que contenía 30 % de PEG 400 y 10 % de DMSO, a la dosis de 25 mg/kg. 2 semanas después de las administraciones de fármaco, se inyectó dextrano-FITC en el ventrículo izquierdo a la dosis de 25 mg/kg, seguido de enucleación del ojo después de 5 minutos; y entonces fijando en una solución al 10 % de formalina. La córnea y el cristalino del ojo se extrajeron del ojo fijado, que entonces se observó bajo un microscopio de fluorescencia. La angiogénesis se identificó por la intensidad y la fuga de dextrano-FITC en el sitio del daño inducido por láser; y los resultados del mismo se mostraron en la FIG. 7. Las evaluaciones que cuantifican las fotografías de la FIG. 7 se realizaron usando el programa Imagen J (NIH, USA) y los resultados del mismo se mostraron en la FIG. 8.

Como se muestra en FIG. 7, se observó una forma reticulada de los vasos de la retina normales (Normal) por la tinción por dextrano-FITC, mientras que la fuga de dextrano-FITC en el sitio del daño inducido por láser se observó en el caso del grupo de control (Control). Sin embargo, puede observarse que, en caso del grupo administrado con el compuesto de la presente invención, el área de fuga de dextrano-FITC en el sitio del daño inducido por láser se redujo en comparación con el grupo de control y el grupo administrado con Avastin.

La FIG. 8 muestra los resultados de evaluación mediante la cuantificación de las intensidades de fluorescencia en las fotografías de la FIG. 7. Cuando la intensidad de fluorescencia de los vasos circundantes fue 100, el grupo de control (Control) administrado con una solución salina estéril mostró 67 ± 3 de intensidad de fluorescencia; y el grupo administrado con Avastin (Ava) mostró 46 ± 3 de intensidad de fluorescencia. A diferencia, entre los grupos administrados con un compuesto de la presente divulgación, el grupo administrado en el humor vítreo con 0,1 mg (0,1 mg/ml, VI) mostró $53 \pm 2,8$ de intensidad de fluorescencia; el grupo administrado en el humor vítreo con 0,3 mg (0,3 mg/ml, VI) mostró $45 \pm 3,1$ de intensidad de fluorescencia; y el grupo administrado por vía intraperitoneal (25 mg/kg, IP) mostró 51 ± 5 de intensidad de fluorescencia. Por tanto, puede observarse que los grupos administrados con el compuesto de la presente divulgación mostraron sorprendentemente baja intensidad de fluorescencia; y que, incluso cuando el compuesto de la presente divulgación se inyectó a concentración más baja que Avastin conocido como un inhibidor de la angiogénesis, tiene efectos equivalentes o más. Además, a partir de los resultados que la administración intraperitoneal también mostró los efectos terapéuticos, puede observarse que la eficiencia en términos del procedimiento de administración es más alta en comparación con el agente terapéutico convencional.

Ejemplo 6. Medición de efectos terapéuticos de degeneración macular en modelos animales que tienen daño de la retina

Las pruebas se realizaron usando minicerdos de Yucatán (3 kg, macho) como modelos animales que tienen daño de la retina (15 cerdos para el grupo de experimento). Se establecieron los modelos de degeneración macular de la retina según los mismos procedimientos que en las ratas Brown Norway del Ejemplo 5. La formulación de colirio (100 μ l, 0,9 mg/ml) preparada según los mismos procedimientos que en el Ejemplo 2 se administró cuatro veces por día durante 2 semanas. Para la inyección vítreo, la solución del mismo compuesto (20 μ l, 0,3 mg/ml) se inyectó en el humor vítreo una vez. 2 semanas después de las administraciones, se inyectó por vía intravenosa 1 % de fluoresceína para observar el sitio del daño inducido por láser; y los efectos del compuesto de la presente divulgación, es decir, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano. Los resultados se mostraron en la FIG. 9. Las evaluaciones que cuantifican las fotografías de la FIG. 9 se realizaron usando el programa Imagen J (NIH, USA) y los resultados del mismo se mostraron en la FIG. 10.

Como se muestra en las FIG. 9 y 10, cuando la intensidad del grupo de control no administrado con fármaco fue 1, el grupo administrado con la formulación de colirio (4 veces por día, 2 semanas) (Colirio) mostró $0,46 \pm 0,17$ de intensidad; y el grupo administrado por vía vítreo (Iny. vítreo) mostró $0,36 \pm 0,14$ de intensidad. Por tanto, el compuesto de la presente invención es eficaz para el tratamiento de degeneración macular. Puede observarse que

el compuesto de la presente invención muestra un excelente efecto terapéutico de degeneración macular.

Ejemplo 7. Medición de la administración en la retina de la formulación de colirio en modelos animales

Los presentes inventores evaluaron si la formulación de colirio que contenía (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano penetraba a través de la córnea y entonces se administraba a la retina. Se usaron ratas Brown Norway (8 semanas de edad) en la prueba; y se establecieron los modelos animales según los mismos procedimientos que en el Ejemplo 5. Las formulaciones de colirio (100 μ l de cada formulación) de los siguientes Ejemplos de formulación 1 a 3 (es decir, las formulaciones de colirio en la forma de solución de los Ejemplos de formulación 1 y 2; y la formulación de colirio en la forma de suspensión del Ejemplo de formulación 3) se administraron cuatro veces por día durante 2 semanas, respectivamente. 2 semanas después de las administraciones, se administró por vía intravenosa 1 % de fluoresceína para observar el sitio del daño inducido por láser; y los efectos del compuesto de la presente invención, es decir, (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano. Los resultados se mostraron en la FIG. 11. Se realizaron evaluaciones que cuantificaban las fotografías de FIG. 11 usando el programa Imagen J (NIH, EE.UU.) y los resultados de las mismas se mostraron en la FIG. 12.

Como se muestra en las FIG. 11 y 12, cuando la intensidad del grupo de control no administrado con fármaco fue el 100 %, el grupo administrado con la formulación de colirio en la forma de solución que tiene la concentración de 0,9 mg/ml (Colirio 0,9 mg/ml) mostró $64,3 \pm 9,7$ % de intensidad; el grupo administrado con la formulación de colirio en la forma de solución que tiene la concentración de 0,6 mg/ml (Colirio 0,6 mg/ml) mostró $75,8 \pm 11,6$ % de intensidad; y el grupo administrado con la formulación de colirio en la forma de suspensión que tiene la concentración de 0,6 mg/ml (Suspensión 0,6 mg/ml) mostró $71,57 \pm 11,58$ % de intensidad. Por tanto, puede observarse que las formulaciones de colirio preparadas según la presente divulgación se administraron externamente y por vía tópica, aquellas muestran excelentes efectos terapéuticos de degeneración macular.

Ejemplo 8. Medición de la administración en la retina de la formulación de colirio en modelos animales

Los presentes inventores evaluaron si la formulación de colirio que contiene (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano penetraba a través de la córnea y entonces se administraba a la retina. Se usaron ratas (8 semanas de edad) en la prueba; y la formulación de colirio (50 μ l) preparada en el siguiente Ejemplo de formulación 1 se añadió gota a gota a cada ojo de la rata. Se midió el nivel de administración del compuesto a la retina; y los resultados del mismo se muestran en la siguiente tabla 1.

[Tabla 1]

Tiempo	Humor acuoso	Humor vítreo	Retina	Plasma
30 minutos	1250 ng/ml	195 ng/ml	846 ng/ml	N.D.
120 minutos	827 ng/ml	194 ng/ml	225 ng/ml	0,9 ng/ml
N.D.: no detectado				

Como se muestra en la Tabla 1 anterior, el compuesto se detectó a los niveles de 1250 ng/ml en el humor acuoso, 195 ng/ml en el humor vítreo y 846 ng/ml en la retina, respectivamente, 30 minutos después de la administración. 120 minutos después de la administración, el compuesto se detectó a los niveles de 827 ng/ml en el humor acuoso, 194 ng/ml en el humor vítreo y 225 ng/ml en la retina, respectivamente. En el plasma, el compuesto no se detectó 30 minutos después de la administración; y se detectó al nivel de 0,9 ng/ml, 120 minutos después de la administración. Por tanto, puede observarse que, cuando el compuesto de la presente invención se añadió gota a gota al ojo, se administra a la retina; y que solo se absorbe una cantidad despreciable en la sangre.

El compuesto de fórmula 1 o su sal según la presente divulgación pueden formularse en diversas formas de dosificación según los fines, preferentemente en una forma de formulación de colirio. La formulación de colirio puede estar en una forma de solución o en una forma de suspensión. Los siguientes ejemplos de formulación ilustran ejemplos representativos de las formulaciones de colirio en una solución o forma de suspensión, pero la presente invención no se limita a esto.

45 Ejemplos de formulación 1 y 2: Preparación de formulaciones de colirio en forma de solución

Se prepararon las formulaciones de colirio en la forma de solución según los componentes y cantidades mostrados en la Tabla 2. Cada cantidad de la Tabla 2 representa la cantidad del mismo por 1 ml de volumen total. Se disolvieron el compuesto del Ejemplo de preparación 23, polietilenglicol 400, glicerina, EDTA y ácido bórico en agua estéril. El pH se ajustó a $6,5 \pm 0,5$ con ácido clorhídrico diluido; y entonces se añadió agua estéril a la solución, para

ajustar el volumen total.

[Tabla 3]

Componente	Ejemplo de formulación 1	Ejemplo de formulación 2
El compuesto de fórmula 1 (Ejemplo de preparación 23)	0,9 mg	0,6 mg
Polietilenglicol 400	150 mg	150 mg
Glicerina	120 mg	120 mg
EDTA	0,5 mg	0,5 mg
Ácido bórico	10 mg	10 mg
Ácido clorhídrico diluido	c.s.p.	c.s.p.

Ejemplo de formulación 3: Preparación de formulación de colirio en la forma de suspensión

- 5 Se preparó la formulación de colirio en la forma de suspensión según los componentes y cantidades mostrados en la Tabla 3. Cada cantidad de la Tabla 3 representa la cantidad del mismo por 1 ml de volumen total. Se dispersaron el compuesto del Ejemplo de preparación 23, povidona K-25, EDTA, ácido bórico, bórax y cloruro sódico en agua estéril. El pH se ajustó a $7,0 \pm 0,5$ con ácido clorhídrico diluido; y entonces se añadió agua estéril a la suspensión, para ajustar el volumen total.

10

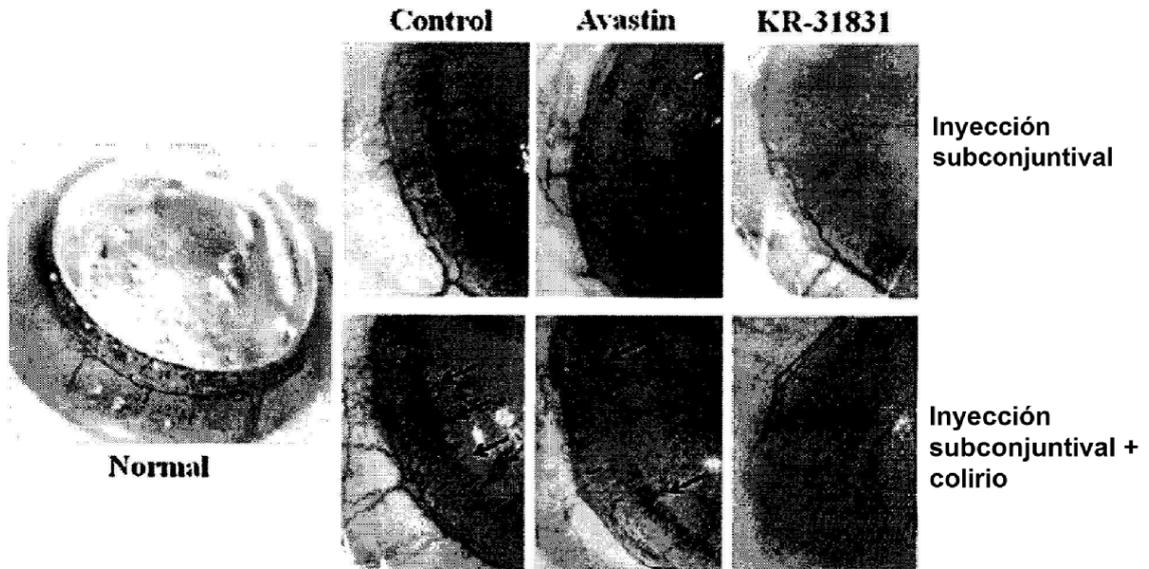
[Tabla 3]

Componente	Ejemplo de formulación 3
El compuesto de fórmula 1 (Ejemplo de preparación 23)	0,6 mg
Povidona K-25	20 mg
EDTA	0,5 mg
Ácido bórico	10 mg
Bórax	1 mg
Cloruro sódico	2 mg
Ácido clorhídrico diluido	c.s.p.

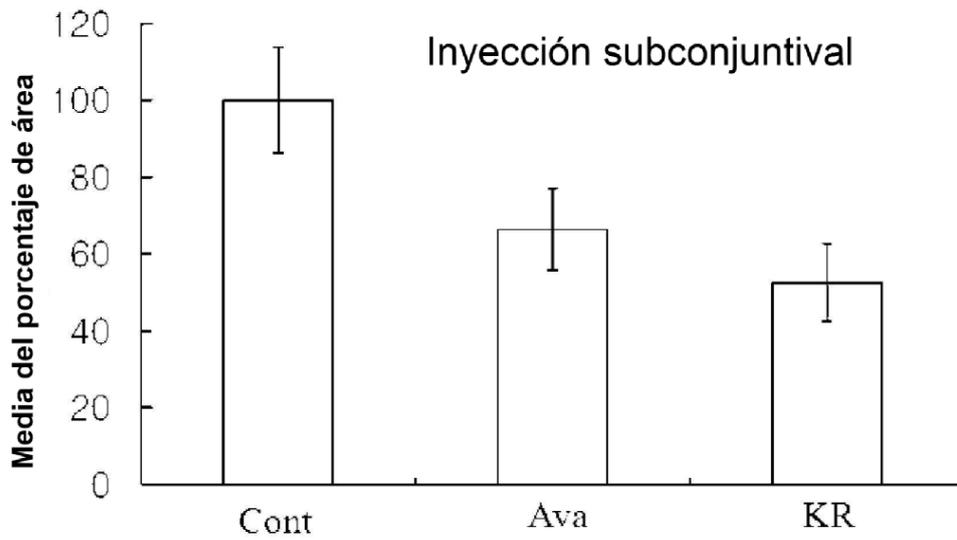
REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende (2R,3R,4S)-6-amino-4-[N-(4-clorofenil)-N-(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]-3-hidroxi-2-metil-2-dimetoximetil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo para su uso en la prevención o el tratamiento de degeneración macular, en la que la composición farmacéutica es una formulación de colirio para administrar a la córnea de un ojo, para aplicar el principio activo a la retina del ojo.
2. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en la que la formulación de colirio tiene una forma de solución o una forma de suspensión.
- 10 3. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en la que no se inhibe la regeneración normal de células epiteliales de la córnea.

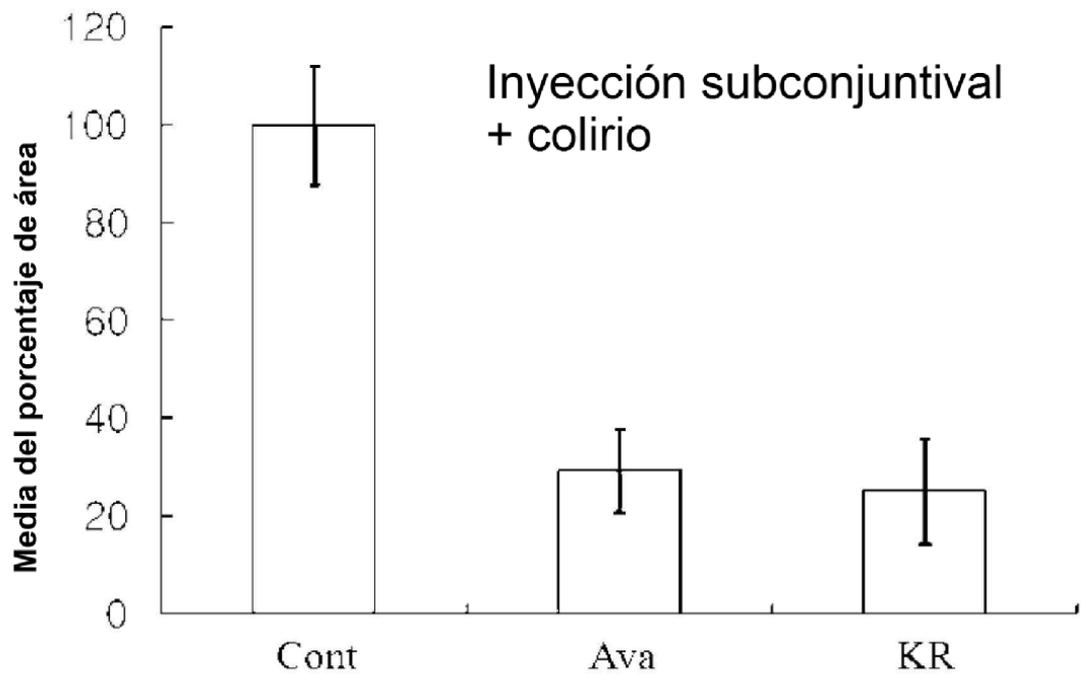
[Fig. 1]



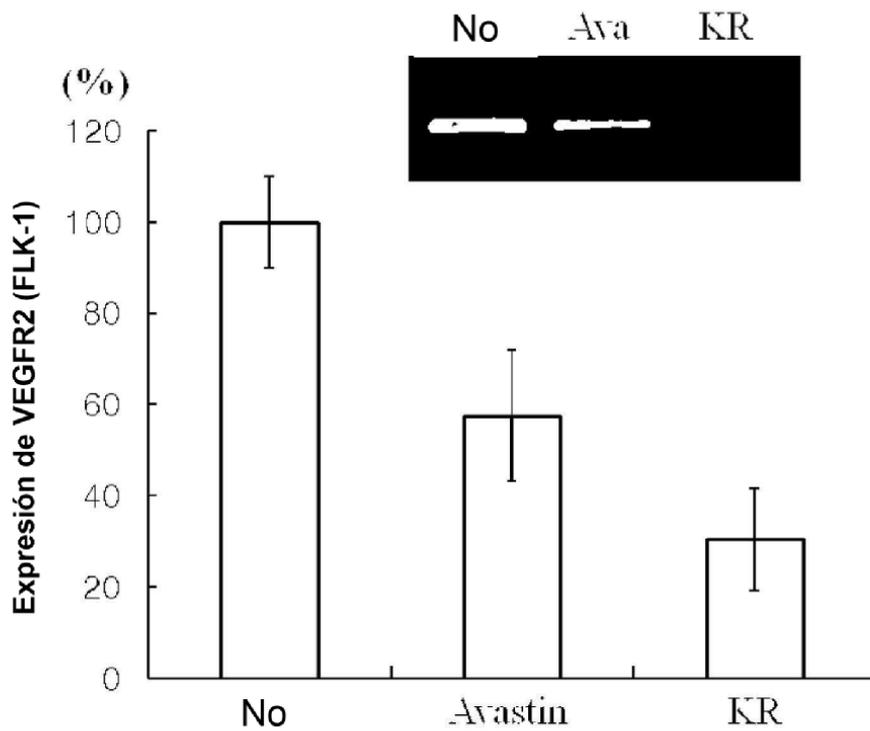
[Fig. 2]



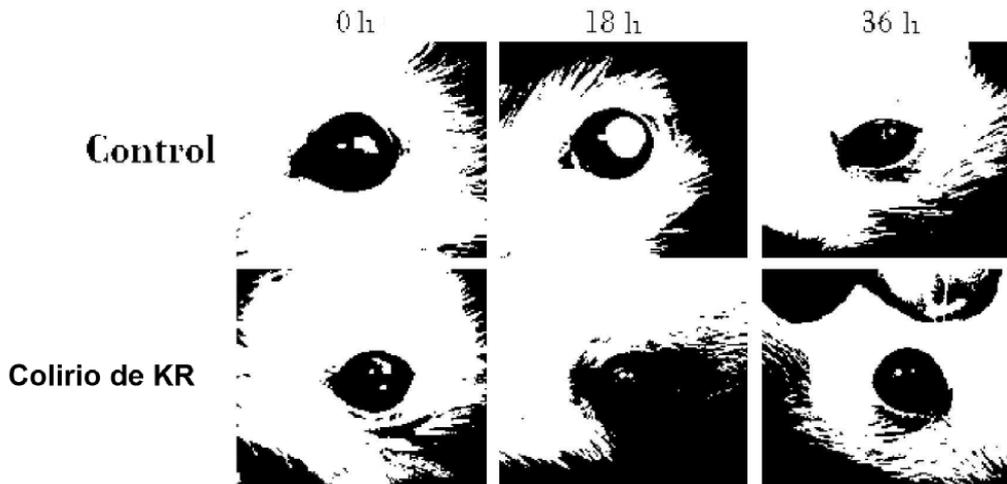
[Fig. 3]



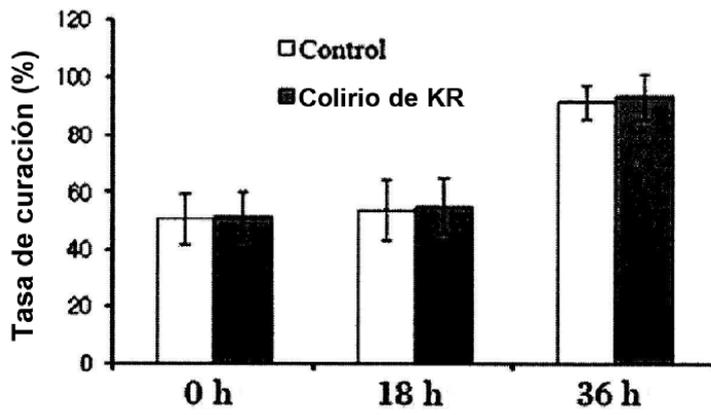
[Fig. 4]



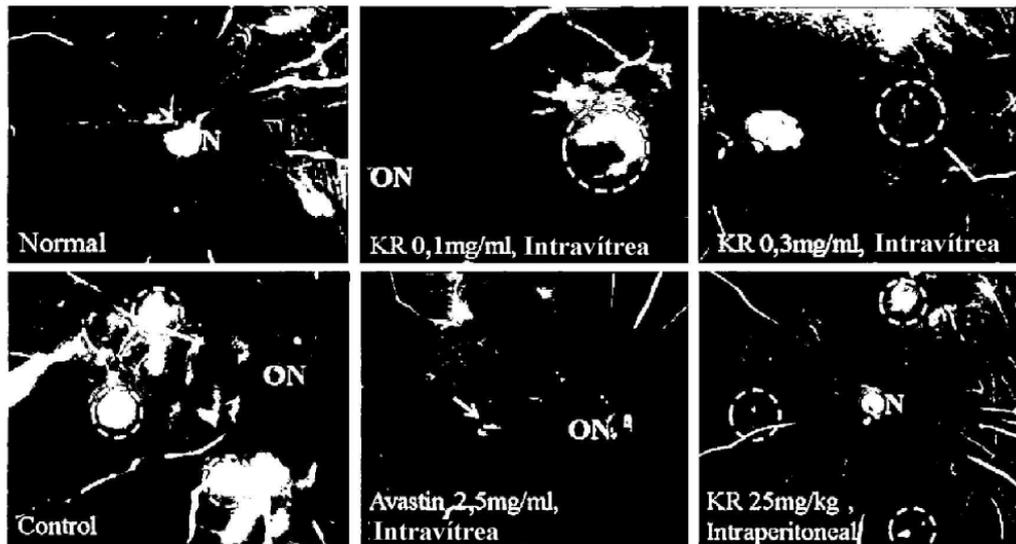
[Fig. 5]



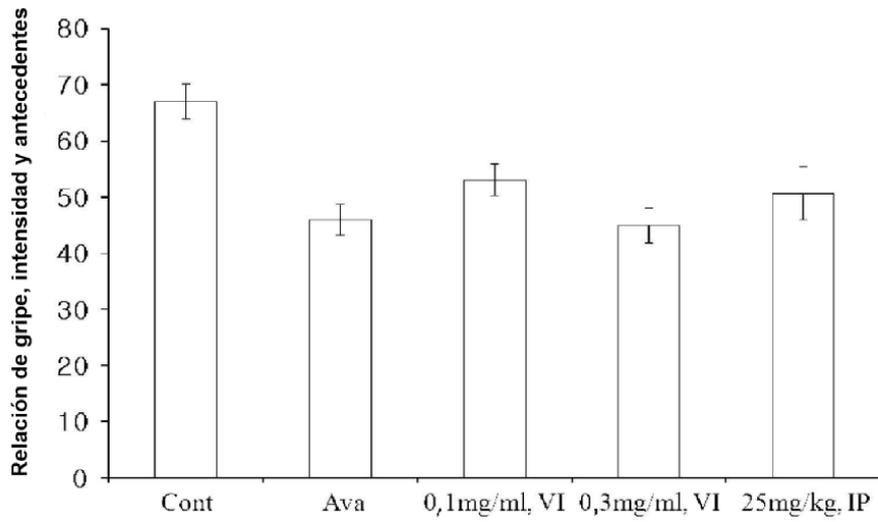
[Fig. 6]



[Fig. 7]



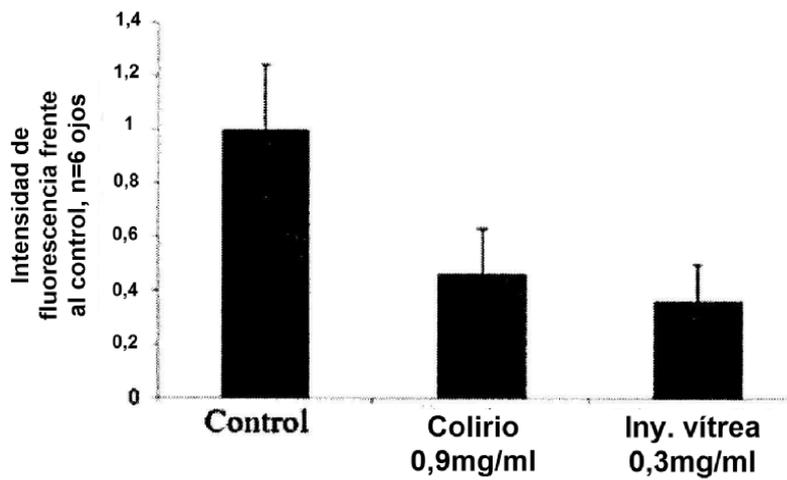
[Fig. 8]



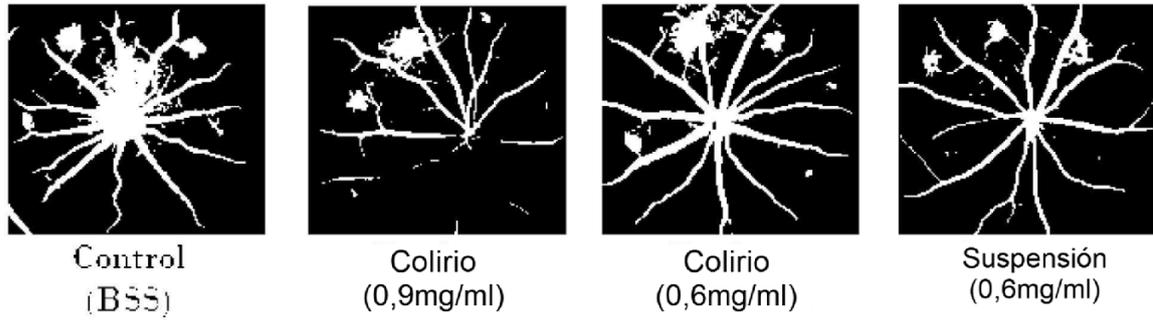
[Fig. 9]



[Fig. 10]



[Fig. 11]



[Fig. 12]

