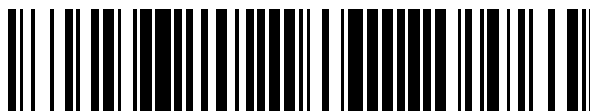


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 337**

51 Int. Cl.:

C07C 205/60 (2006.01)

C07C 229/64 (2006.01)

C07C 271/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2011** **PCT/IB2011/052175**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2011** **WO11148297**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2011** **E 11729709 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.10.2017** **EP 2576495**

54 Título: **Nuevos derivados de mesalazina, procedimiento para su preparación, y su utilización en el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales**

30 Prioridad:

24.05.2010 IT MI20100929

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

06.02.2018

73 Titular/es:

SOFAR SPA (100.0%)
Via Firenze 40
20060 Trezzano Rosa (MI), IT

72 Inventor/es:

LABRUZZO, CARLA

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

Observaciones :

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

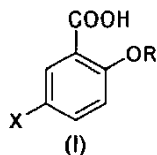
ES 2 653 337 T3

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

Nuevos derivados de mesalazina, procedimiento para su preparación, y su utilización en el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales.

La presente invención se refiere a los compuestos que corresponden a la siguiente fórmula general (I):



en la que:

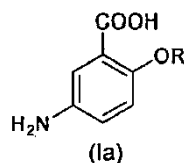
R = alcanoilo de C₄-C₈; y

X = NH-R₁

en el que R₁ = H, o el grupo terc-butiloxycarbonilo (Boc);

y/o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los compuestos preferidos según la presente invención se representan mediante la siguiente fórmula (Ia):



en la que:

R = alcanoilo de C₄-C₈;

y/o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una forma de realización preferida, un objeto de la presente invención es proporcionar ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferentemente la sal clorhidrato.

Un objeto adicional de la presente invención está representado por los compuestos de fórmula (Ia), en particular ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, para su utilización como un medicamento y, mediante dichos compuestos, para su utilización para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales.

La presente invención se refiere asimismo a los procedimientos de síntesis para obtener tales compuestos y algunos compuestos intermedios de dichos procedimientos de síntesis.

Estado de la técnica

El ácido 5-aminosalicílico (en adelante también denominado como 5-ASA o mesalazina) representa uno de los fármacos fundamentales e históricamente usados en la terapia de enfermedades inflamatorias intestinales tanto agudas como crónicas. Actualmente, se usa preferentemente para el tratamiento de IBD, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn e IBS. (Regueiro *et al.* Clinical Guidelines for the Medical Management of left-side ulcerative colitis and ulcerative proctitis: summary statement; Kornbluth A *et al.* Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American college of gastroenterology, practice parameters committee). Tal principio activo tiene una acción antiinflamatoria tópica a nivel de la luz intestinal, con inhibición consiguiente de la biosíntesis de los mediadores químicos del proceso inflamatorio, derivados de ácido araquidónico tales como prostaglandina E₂, tromboxano B₂ y leucotrienos.

La mesalazina no reacciona sistémicamente sino solo tópicamente en contacto con la mucosa del intestino inferior, íleon distal y colon, sitios selectivos de la flogosis idiopática aguda y crónica. Administrada oralmente, la mesalazina debería así alcanzar los sitios de la enfermedad a través de comprimidos o gránulos con liberación modificada, una formulación que pasa inalterada a través del estómago y el intestino delgado, liberando el principio activo solamente en el íleon distal y, por encima de todo, en el colon. La mesalazina se administra

rectalmente, preferentemente en suspensión acuosa en forma de enema de retención, o en supositorios, espuma rectal y gel anorrectal.

Para tratar enfermedades inflamatorias intestinales, se usan ácidos grasos de cadena corta (SCFA). Se usan en formulaciones tópicas, especialmente en pacientes con colitis ulcerosa rectal, y en formulaciones orales, en asociación con terapia convencional. Esta familia de ácidos grasos, que comprende ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido butírico, ácido isovalérico, ácido valérico, ácido caproico, ácido láctico y ácido succínico, es considerada la fuente principal de energía para las células de la mucosa del colon y un factor fundamental para controlar el crecimiento de la mucosa.

Las fuentes alimentarias de ácidos grasos de cadena corta están bastante limitadas; se producen especialmente durante la fermentación de fibras llevada a cabo por las bacterias encontradas en el colon. En particular, entre estos ácidos grasos de cadena corta, el ácido butírico representa la fuente más grande de energía para colonocitos, hasta un punto en el que su deficiencia determina la atrofia de la mucosa. Además, parece tener efectos positivos en la prevención de cáncer de colon dado que, *in vitro*, ha demostrado no solo la capacidad de inhibir la proliferación de células carcinogénicas sino también de estimular su diferenciación. Además, los ácidos grasos de cadena corta realizan un papel antiinflamatorio en la mucosa del colon.

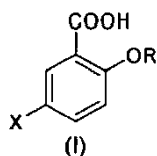
También con respecto al ácido butírico y derivados, que realizan su actividad terapéutica localmente en enfermedades intestinales agudas o crónicas, surge la necesidad de la administración oral a través de comprimidos de liberación modificada o en forma de enema, como se especifica anteriormente con respecto a mesalazina.

El documento US2006/270635 describe derivados de ácido 5-aminosalicílico de fórmula (I), composiciones farmacéuticas de los mismos, y su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino. En particular, describe compuestos de fórmula (XII) y (XXIII), en los que el grupo hidroxilo del resto salicílico se esterifica con un α -aminoácido que porta un átomo de azufre en la cadena lateral.

Ahora se han descubierto nuevos derivados de mesalazina que son particularmente ventajosos en la cura de enfermedades inflamatorias intestinales tanto agudas como crónicas; en particular, se ha descubierto sorprendentemente un nuevo compuesto que puede combinar los efectos terapéuticos de mesalazina y ácido butírico, es decir, ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, tal como clorhidrato.

Descripción detallada de la invención

Un objeto de la presente invención se representa mediante los compuestos que corresponden a la siguiente fórmula general (I):



en la que:

R = alcanoílo de C₄-C₈; y

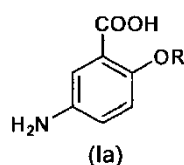
X = NH-R₁

en el que R₁ = H, o el grupo terc-butiloxycarbonilo (Boc)

y/o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

La expresión "grupo protector para aminas" se refiere al texto "Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Third edition, pages. 503-648".

Los compuestos preferidos según la presente invención se representan mediante la siguiente fórmula (Ia):

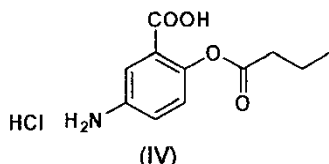


en la que:

R = alcanoilo de C₄-C₈;

y/o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una forma de realización preferida, un objetivo de la presente invención es proporcionar ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferentemente la sal clorhidrato (compuesto (IV)).



Los compuestos de fórmula (Ia), en particular el ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferentemente la sal clorhidrato, como medicamento forman un objeto adicional de la presente invención.

En particular, dicho ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo intervienen como profármacos capaces de liberar los dos principios activos, mesalazina y ácido butírico, en los sitios selectivos de la flogosis idiopática intestinal, íleon distal y colon.

Los compuestos de fórmula (Ia), en particular 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacológicamente utilizables del mismo, para uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales agudas y crónicas, entre ellas IBD (enfermedad inflamatoria del intestino), colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad diverticular, IBS (síndrome de intestino irritable), forman un objeto adicional de la presente invención. Preferentemente, los compuestos de fórmula (Ia) se aplican específicamente en el tratamiento de IBD.

Según la presente invención, los compuestos mencionados anteriormente de fórmula (Ia), y en particular, 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente utilizables del mismo, se pueden administrar a seres humanos, entendidos tanto como un sujeto adulto como una "población pediátrica", en el que la expresión "población pediátrica" se usa para indicar la parte de la población entre el nacimiento y los ocho años de edad.

Una composición farmacéutica que contiene los compuestos de fórmula (Ia), en particular 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, y al menos un excipiente fisiológicamente aceptable forman un objeto adicional de la presente invención.

Actualmente, los compuestos según la presente invención se pueden administrar a pacientes afectados por enfermedades inflamatorias intestinales agudas y crónicas, en forma de preparaciones farmacéuticas, teniendo en cuenta la actividad local y no sistémica de estos principios activos. La expresión "actividad local" se usa para indicar que el principio activo debería entrar en contacto con la mucosa del colon.

Dicha composición farmacéutica puede contener los compuestos mencionados anteriormente en forma sólida, preferentemente seleccionada de entre comprimido, cápsula, gránulo, microgránulo, o en forma líquida, seleccionada preferentemente de entre suspensión o disolución acuosa para administración oral o, para administración rectal, preferentemente a través de un edema, supositorio, gel o espuma rectal.

La administración oral puede usar preparaciones de liberación modificada que pasan inalteradas a través del estómago o del intestino delgado y liberan después el principio activo en el colon.

La administración de la composición farmacéutica según la presente invención es particularmente ventajosa por cuanto permite administrar el 5-ASA antiinflamatorio y el factor trófico intestinal, ácido butírico, en una única administración, mejorando así el cumplimiento del paciente con respecto a una administración combinada de los dos principios activos separados.

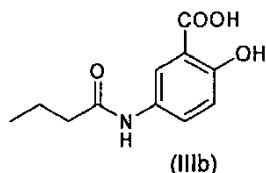
Los ensayos *in vitro* e *in vivo*, indicados a continuación en la parte experimental, revelan algunas características considerables del 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico en forma de sal clorhidrato, el compuesto (IV).

Es estable en el almacenamiento tanto en las condiciones normales (25°C, 60% RH) como aceleradas (40°C, 75% RH), así como en los fluidos gástricos y en el intestinal simulado; tiene un porcentaje elevado de hidrólisis tanto en plasma humano como murino; tiene baja permeabilidad a través de la membrana basolateral de la estirpe celular Caco2, garantizando por tanto el mantenimiento de la acción tópica de 5-ASA a liberar; además,

se metaboliza rápidamente en el intestino de rata.

Los estudios farmacocinéticos *in vivo* en ratas en las que se administra el compuesto (IV) p.o. e i.v. revelaron buenos parámetros farmacocinéticos del mismo.

Por el contrario, los mismos estudios *in vitro* e *in vivo* llevados a cabo en otro derivado conjugado de mesalazina con ácido butírico, en particular el derivado de fórmula (IIIb):

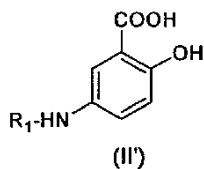


no revelaron resultados positivos.

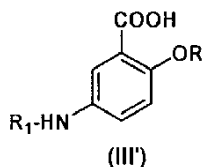
Esto muestra que no todos los conjugados de mesalazina con ácido butírico son adecuados para el tratamiento de enfermedad intestinal.

Un objeto adicional de la presente invención es el procedimiento de síntesis de los compuestos de fórmula (Ia) caracterizado por las siguientes etapas:

a') proteger 5-ASA con un grupo protector de amina para obtener los compuestos de fórmula (II');



b') acilar el grupo hidroxilo de los compuestos de fórmula (II') para obtener los compuestos de fórmula (III');



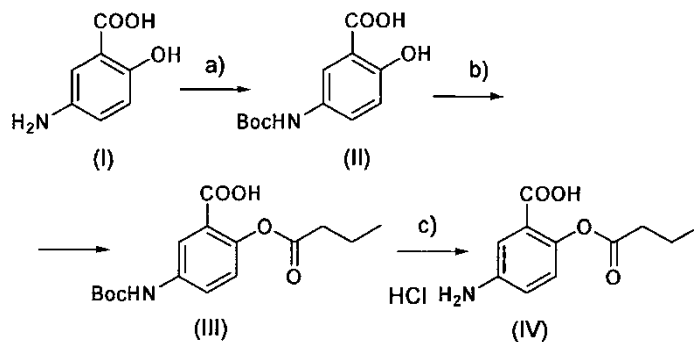
c') desproteger el grupo amino,

en las que:

R = alcanoílo de C₄-C₈;

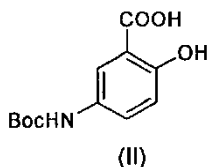
y R₁ es un grupo protector de amina, preferentemente el grupo terc-butiloxycarbonilo (Boc).

En particular, el Esquema A dado a conocer a continuación muestra la síntesis preferida para obtener ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico, en forma de clorhidrato (compuesto IV), partiendo de 5-ASA:

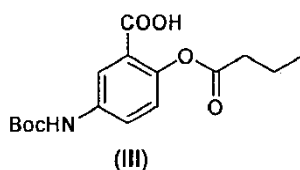


Tal procedimiento se caracteriza por las siguientes etapas:

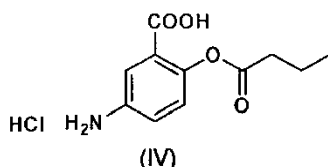
a) proteger 5-ASA con un derivado de Boc para obtener el compuesto (II);



b) butirilar el grupo hidroxilo del compuesto (II) para obtener el compuesto (III);



c) desproteger el grupo amino del compuesto (III) para obtener ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico como clorhidrato, compuesto (IV).



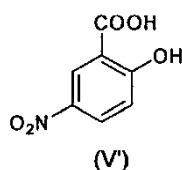
La etapa a) se lleva a cabo en un disolvente polar aprótico y/o en una mezcla de dicho disolvente con H₂O, preferentemente en una relación molar comprendida entre 1:1 y 3:1, más preferentemente 2:1. Dicha mezcla está constituida preferentemente por dioxano y agua, preferentemente en una relación molar 2:1. Tal etapa se lleva a cabo en presencia de una base, preferentemente orgánica, más preferentemente trietilamina, en una relación molar comprendida entre 1:1 y 3:1, preferentemente 1,5:1 con respecto al 5-ASA. El dicarbonato de di-terc-butilo (Boc₂O) se usa en una relación molar comprendida entre 1:1 y 2:1, preferentemente 1,5:1 con respecto al 5-ASA.

La etapa b) se lleva a cabo en presencia de un haluro de butirilo, preferentemente cloruro de butirilo y/o un anhídrido butírico, en una relación molar comprendida entre 1:1 y 3:1, preferentemente 2:1 con respecto al compuesto (II).

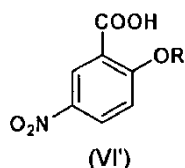
La etapa b) se lleva a cabo en un disolvente apolar aprótico, preferentemente seleccionado de entre un hidrocarburo alifático o aromático, hidrocarburo alifático halogenado, más preferentemente diclorometano, en presencia de una base, preferentemente orgánica, más preferentemente diisopropiletilamina, preferentemente en una relación molar 3:1 con respecto al compuesto (II).

La etapa de desprotección c) se lleva a cabo en un entorno ácido generado preferentemente por HCl en un disolvente aprótico, más preferentemente por HCl en dioxano o HCl en éter etílico. Alternativamente, los compuestos de fórmula (Ia) se pueden sintetizar según las siguientes etapas:

d') acilando el grupo hidroxilo del nitroderivado (V') disponible en el mercado



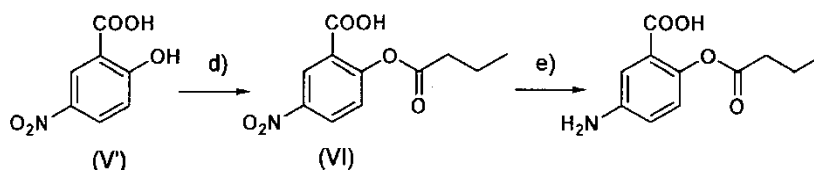
para obtener los compuestos de fórmula (VI');



e') hidrogenando el grupo nitro de los compuestos de fórmula (VI'), en los que:

5 R = alcanoílo de C₄-C₈.

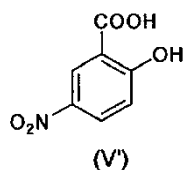
En particular, el Esquema B proporcionado a continuación muestra la síntesis para obtener el ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico partiendo de (V'):



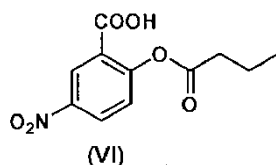
Esquema B

Tal procedimiento se caracteriza por las siguientes etapas:

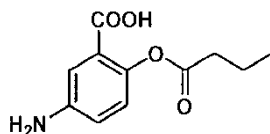
15 d) butirilar el nitroderivado (V')



para obtener el compuesto (VI);



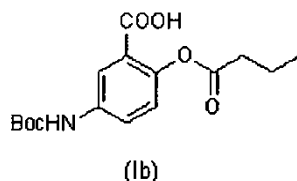
e) hidrogenar el compuesto (VI) para obtener el ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico.



La etapa d) se lleva a cabo en presencia de anhídrido butírico y/o un haluro de butirilo, preferentemente anhídrido butírico, preferentemente en presencia de un catalizador ácido, preferentemente ácido sulfúrico. Dicho anhídrido butírico se usa en una relación molar con respecto al compuesto (V') comprendida entre 1:1 y 5:1, preferentemente 3:1. Dicha etapa d) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 40°C y 70°C, preferentemente alrededor de 55°C.

La etapa d) se lleva a cabo en un disolvente polar, preferentemente en un alcohol de C₁-C₄, dioxano, tetrahidrofurano y/o mezclas de los mismos. dicho alcohol de C₁-C₄ es preferentemente etanol.

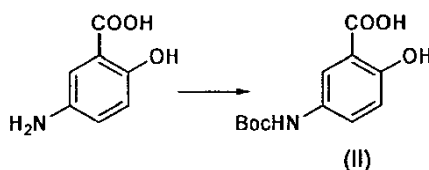
El compuesto que corresponde a la fórmula (Ib) indicada a continuación



- 5 y su utilización como intermedio en los procedimientos de síntesis indicados anteriormente también son un objeto de la presente invención.

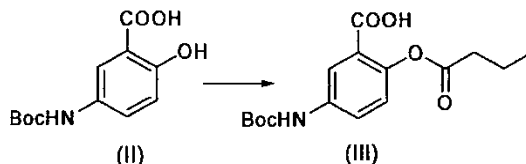
Los ejemplos a continuación son proporcionados a título ilustrativo y no limitativo de la presente invención.

10 **Ejemplo 1: Síntesis del ácido 5-(terc-butoxicarbonilamino)-2 hidroxibenzoico (II)**



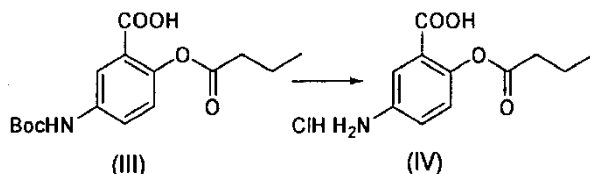
- 15 Se añade trietilamina (1,5 eq.) (disolución completa) seguido de dicarbonato de di-terc-butilo (1,5 eq.) a una suspensión de alrededor de 0,27 M de 5-ASA en una mezcla 2:1 de dioxano/agua, enfriada hasta 0°C. Se agita durante 30 min. a 0°C y a temperatura ambiente durante 16 horas. Se evapora el dioxano, la disolución resultante acuosa se enfría en un baño de hielo y se acidifica con HCl 3N. El producto (II) precipita como sólido blanco. Se filtra, se lava con agua, se seca a vacío a 50°C. Rendimiento cuantitativo.

20 **Ejemplo 2: Síntesis de ácido 5-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(butiriloxi)benzoico (III)**



- 25 Se añade diisopropiletilamina (3 eq.) (disolución completa) seguido de cloruro de butirilo (2 eq.) a una suspensión de aproximadamente 0,4 M del compuesto (II) en diclorometano, enfriada hasta 0°C y en atmósfera inerte. Se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. Se añade HCl 1N (enfriado en un baño de hielo) hasta pH ácido. La fase orgánica se lava con agua, se seca y se evapora. En esta etapa, se obtiene una mezcla del producto deseado (III) y producto desacetilado (probablemente el anhídrido correspondiente) como un sólido blanquecino. La mezcla se disuelve en éter etílico (concentración de aproximadamente 0,1 M), se añade una disolución 2N de HCl en éter etílico (0,2 eq.), y se agita a temperatura ambiente durante 25 días, tiempo durante el cual se añade ácido clorhídrico 2N-éter otras 2 veces (0,4 eq. de HCl en total) hasta obtener la conversión completa en el producto (III). El disolvente se evapora, el sólido resultante se tritura con hexano (2 veces), se filtra, y se seca, obteniendo el producto (III) como sólido blanco. Rendimiento 88%, pureza 99% mediante LC-MS.

35 **Ejemplo 3: Síntesis del clorhidrato del ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico (IV)**



- 40 Se añade una disolución 4N de HCl en dioxano (5 eq. de HCl) a una disolución de alrededor de 0,07 M del compuesto (III) en éter etílico; se agita a temperatura ambiente durante 20 días, tiempo durante el cual se añade periódicamente ácido clorhídrico-dioxano y por tanto HCl 2N en éter etílico (10 eq. de HCl en total), y existe una precipitación gradual del producto. Se filtra lavándolo abundantemente con éter etílico, se seca a temperatura ambiente, obteniendo (IV) como un sólido beige claro. Rendimiento 65%, pureza de 98% según LC-MS.

- 45 Si es necesario, el producto se puede triturar en una mezcla de éter etílico/dioxano (3:1 respectivamente) para

incrementar su título.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,64 (d, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,14 (d, 1H), 2,52-2,55 (m, 2H), 1,65 (sxt, 2H), 0,97 (t, 3H).

Ejemplo 4: Evaluación de la estabilidad del compuesto (IV) a 25°C y a 40°C

El objeto de tal estudio es la evaluación de la estabilidad del compuesto (IV) mantenido a una temperatura equivalente a 25°C (60% RH) y a 40°C (75% RH).

En particular, tal estudio busca evaluar el título del compuesto (IV) en el ensayo de estabilidad a 25°C (60% RH) a los 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60 meses y en el ensayo de estabilidad acelerado a 40°C (75% RH) a los 3, 6, 9, 12 meses.

El compuesto (IV) se divide en 10 tubos Eppendorf, numerados de 1 a 10, que contienen aproximadamente 50 mg de producto, y se almacena en una bodega a 25°C 60% RH.

Otros 4 tubos Eppendorf, numerados de 11 a 14, que contienen aproximadamente 50 mg de producto, se introducen en un horno a una temperatura equivalente a 40°C 75% RH.

El título a tiempo $t = 0$ es equivalente a 99,3%.

Actualmente estos datos están disponibles a los 3 meses, indicados en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Compuesto (IV) a 25°C 60RH

	Muestra P (mg)	Área 1	Área 2	Área media	Título %
Muestra 1	10,2	79,42	79,45	79,43	98,2
Muestra 2	10,3	79,88	80,42	80,15	98,1
				Media	98,1

Tabla 2. Compuesto (IV) a 40°C 75% RH

	Muestra P (mg)	Área 1	Área 2	Área media	Título %
Muestra 1	10,5	83,22	83,06	83,14	99,8
Muestra 2	10,5	85,52	85,40	85,46	102,6
				Media	101,2

A partir de los resultados experimentales obtenidos hasta la fecha, el compuesto (IV) no parece estar sometido a modificaciones considerables en las dos condiciones de almacenamiento.

Ejemplo 5: Evaluación de la estabilidad del compuesto (IV) en fluidos gástrico simulado e intestinal simulado

Tal estudio se realiza con el objeto de evaluar la estabilidad del compuesto (IV) a pH 1,1 (SIF) y pH 7,4 (SGF) en ausencia de enzimas de la flora bacteriana intestinal. La estabilidad del compuesto (IV) se compara con la de los patrones de referencia conocidos. La tabla 3 muestra los resultados experimentales que indican que la molécula es estable en ambos medios (SIF y SGF) tanto después de 30 como de 90 minutos de incubación.

Tabla 3. Porcentaje residual del compuesto (IV) después de 30 y 60 minutos de incubación en SIF y SGF

Compuestos	SGF		SIF	
	% Residuo		% Residuo	
	30 min	60 min	30 min	60 min
Compuesto (IV)	97,3 $\pm$ 1,1	99,9 $\pm$ 0,9	97,4 $\pm$ 4,1	103,2 $\pm$ 3,5
Rifampicina	84,9 $\pm$ 1,5	65,8 $\pm$ 1,5	98,9 $\pm$ 1,1	94,2 $\pm$ 1,1
Eritromicina	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	98,1 $\pm$ 1,4	100,9 $\pm$ 0,4
Clorambucilo	92,8 $\pm$ 2,1	89,8 $\pm$ 1,5	42,1 $\pm$ 0,5	13,9 $\pm$ 0,3
SGF = Fluido gástrico simulado SIF = Fluido intestinal simulado Los valores se expresan como media $\pm$ SD (n = 2)				

Ejemplo 6: Evaluación de la estabilidad del compuesto (IV) en plasma humano y de rata

Tal estudio se realiza con el objeto de evaluar la posible hidrólisis del compuesto (IV) por las esterasas

plasmáticas.

El porcentaje de hidrólisis del compuesto (IV) se compara con el de patrones de referencia conocidos.

- 5 Los resultados experimentales obtenidos, indicados en la Tabla 4, indican que, en el plasma humano, el compuesto (IV) se hidroliza un 67,3%, mientras que en el plasma murino se hidroliza un 91,5%, después de 1 hora de incubación.

Tabla 4. Resultados de la estabilidad en plasma humano y murino del compuesto (IV)

10

Compuestos	Plasma de rata	Plasma humano
% Residuo a 60 min.		
Compuesto (IV)	8,5 ± 2,0	32,7 ± 2,6
M7319	0,20 ± 0,03	10,8 ± 0,1
Lidocaína	93,4 ± 4,9	105,0 ± 12,1
Los resultados se expresan como media ± SD (n = 2) Los valores que superan el 100% son debidos posiblemente al efecto de la matriz		

Ejemplo 7: Evaluación de la permeabilidad del compuesto (IV) en la estirpe celular Caco2

- 15 Tal estudio se realiza con el objeto de evaluar la capacidad de la molécula para permear el epitelio intestinal y para ser absorbida evaluando de ese modo la Papp (coeficiente de permeabilidad aparente).

- 20 La Papp del compuesto (IV) se compara con el de los patrones de referencia conocidos. La Tabla 5 muestra los resultados experimentales obtenidos. Indican que la molécula presenta una mala permeabilidad, y que no existe ningún fenómeno de reflujo aparente (relación BA/AB < 1). Por tanto, el producto no parece ser un sustrato de P-gp (glicoproteína P), garantizando por tanto el mantenimiento de la acción tóxica del principio activo, 5-ASA, a liberar.

Tabla 5. Datos de permeabilidad

Compuestos	Papp A→B (nm/s) Media ± SD	A→B Balance de masas medio %	Papp B→A (nm/s) Media ± SD	B→A Balance de masas medio %	Relación BA/AB
Compuesto (IV)	5,9±1,2	69	2,4±0,3	99	0,41
Cimetidina	5,8±0,4	63	24,5±3,4	111	4,2
Vinblastina	4,1±2,1	89	-	-	-
Cafeína	341,4±14,8	83	-	-	-
Los resultados se expresan como media ± SD (n = 2) Apical (pH 6,5) → Basolateral (pH 7,4) Clasificación de la absorción: Papp>50: Elevada; Papp 10-50: Media; Papp<10: Baja					

25

Ejemplo 8: Evaluación de la estabilidad del compuesto (IV) en homogeneizado intestinal murino

Tal estudio se realiza con el objeto de evaluar la estabilidad del compuesto (IV) en homogeneizado intestinal.

- 30 La estabilidad del compuesto (IV) se compara con la de patrones de referencia conocidos.

- 35 Los resultados experimentales obtenidos, indicados en la Tabla 6 a continuación, indicaron que el compuesto (IV) es muy inestable en el intestino de rata, es decir, se metaboliza muy rápidamente. En particular, el compuesto (IV) ensayado a dos concentraciones (25 y 50 µM) muestra una concentración de hidrólisis que supera 90-95%.

Tabla 6. Porcentaje de residuo del compuesto (IV) en homogeneizado intestinal de rata después de 30 min., 1, 2 y 4 horas de incubación.

Compuestos	Intestino de rata			
	30 min.	1 h	2 h	4 h
Compuesto (IV) 25 µM	9,8 ± 1,1	12,2 ± 1,6	10,1 ± 4,4	24,5 ± 1,3(*)
Compuesto (IV) 50 µM	5,6 ± 0,6	4,4 ± 1,1	7,3 ± 1,0	5,5 ± 1,1
Clorambucilo	49,5 ± 7,8	16,9 ± 2,2	1,5 ± 0,1	0,20 ± 0,08
Eritromicina	83,5 ± 3,6	84,7 ± 3,6	95,0 ± 11,0	97,5 ± 2,8
Los resultados se expresan como media ± SD (n = 2)				

Compuestos	Intestino de rata
(*) El incremento detectado en este último punto podría ser debido a problemas de inyección.	

Ejemplo 9: Evaluación de la hidrólisis del compuesto (IV) en intestino de rata conservado en diferentes condiciones

- 5 Tal estudio se realiza con el objeto de evaluar la estabilidad del compuesto (IV) en homogeneizado de intestino de rata conservado en diferentes condiciones: congelado a 4°C y a -80°C. La estabilidad del compuesto (IV) se compara con la de patrones de referencia conocidos. Los resultados experimentales obtenidos, indicados en la Tabla 7 a continuación, indicaron que el compuesto (IV) en el homogeneizado de intestino de rata reciente se metaboliza rápidamente. Se observa la misma actividad enzimática en el homogeneizado conservado a 4°C y a -80°C después de tres semanas.

Tabla 7. Porcentaje residual del compuesto (IV) en intestino de rata después de 15, 30 y 60 min. de incubación

Compuesto/condiciones	Estabilidad en intestino de rata (% de residuo)		
	15 min.	30 min.	60 min
Compuesto (IV) homogeneizado reciente	0,030 ± 0,015	0,031 ± 0,004	0,047 ± 0,021
Compuesto (IV) homogeneizado 4°C	0,046 ± 0,004	0,046 ± 0,022	0,064 ± 0,008
Compuesto (IV) homogeneizado -80°C	0,024 ± 0,007	0,034 ± 0,001	0,470 ± 0,012
Compuesto (IV) intestino -80°C	0,145 ± 0,029	0,091 ± 0,038	0,098 ± 0,002
Clorambucilo homogeneizado reciente	75,2 ± 3,8	58,7 ± 2,3	28,0 ± 1,5
Clorambucilo homogeneizado 4°C	76,5 ± 5,0	53,0 ± 13,9	25,9 ± 5,3
Clorambucilo intestino -80°C	73,0 ± 1,2	25,0 ± 6,1	6,9 ± 1,4
Los resultados se expresan como media ± SD (n = 2)			

15 Ejemplo 10: Evaluación de la farmacocinética *in vivo* del compuesto (IV)

- Los objetivos de tal estudio son la evaluación de los parámetros farmacocinéticos más relevantes (C_{max}, T_{max}, AUC, aclaramiento, semivida y biodisponibilidad después de la administración i.v. y p.o.) del compuesto (IV) en la rata y la cuantificación del producto 5-ASA (metabolito del compuesto (IV)) tras la administración del compuesto (IV).

Las tablas 8 y 9 indican los datos experimentales obtenidos.

- Indican que el compuesto (IV) se metaboliza rápidamente después del tratamiento i.v. y p.o. Se observa en el plasma una cantidad abundante del metabolito del mismo, 5-ASA. Tras la administración i.v., la cantidad de 5-ASA en el plasma es diez veces mayor que la del compuesto (IV), con un intervalo de concentración en el plasma comprendido entre 659 y 2,1 ng/ml.

- Tras la administración p.o., el compuesto (IV) revela una C_{max} entre 5 y 30 min., equivalente a 95 ng/ml, y se reduce hasta 1 ng/ml después de 4 horas. Los niveles de metabolito 5-ASA son 50 veces mayores que los del compuesto (IV).

Tabla 8. Parámetros farmacocinéticos del compuesto (IV) tras la administración i.v. (5 mg/kg) y sonda nasogástrica oral (50 mg/kg) en la rata

IV	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Media	SD	CV%
AUCinf (min*ng/ml)	20455	18700	22424	20526	1863,1	9,1
AUClast (min*ng/ml)	17757	17271	21300	18776	2199,4	11,7
T _{max} (min)	2	2	2	2	-	-
T _{last} (min)	1440	1440	1440	1440	-	-
C _{max} (ng/ml)	598	529	851,2	659	169,7	25,7
C _{last} (ng/ml)	2,9	1,8	1,7	2,1	0,7	31,2
T _{1/2} (min)	638,5	547,1	451,8	545,8	93,3	17,1
MRT (min)	273	209	175	219	50	23
Cl (ml/min/kg)	210,2	229,9	191,8	210,6	19,1	9,1
V _{dss} (l/kg)	115,3	83,5	51,9	83,5	31,6	37,8

IV	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Media	SD	CV%
XOS	Rata 4	Rata 5	Rata 6	Media	SD	CV%
AUCinf (min*ng/ml)	4593	3985	5954	4844	1008	24,1
AUClast (min*ng/ml)	4042	3943	5925	4637	1117	24,1
Cmax	89	104	174	122	45,4	37,1
Tmax (min)	30	15	5	16,7	12,6	75,5
Clast (ng/ml)	2,9	0,8	1,3	2,8	1	37,1
Tlast (min)	240	240	120	200	69	34
MRTlast (min)	48	32	23	35	11,6	33,3
Mean Fpo 0_inf (%)				2,4		
AUCinf = área por debajo de la curva inferior; AUClast = área por debajo de la última curva; Cmax = concentración máxima; Tmax = tiempo que corresponde a la Cmax; Clast = última concentración; Tlast = tiempo que corresponde a la Clast; T1/2 = tiempo de vida media; MRT = tiempo medio de residencia; CI = Aclaramiento; Vdss = volumen de distribución en estado estacionario; Mean Fpo = biodisponibilidad media p.o.						

Tabla 9. Parámetros farmacocinéticos de 5-ASA tras la administración i.v. y mediante sonda nasogástrica oral del compuesto (IV) respectivamente a 5 y 50 mg/kg.

IV	Media
AUCinf (min*ng/ml)	84541
AUClast (min*ng/ml)	82431
Tmax (min)	2
Tlast (min)	30
Cmax (ng/ml)	7878
Clast (ng/ml)	252
X OS	
AUCinf (min*ng/ml)	532323
AUClast (min*ng/ml)	524216
Cmax (ng/ml)	6962
Tmax (min)	15
Tlast (min)	240
Parámetros calculados sobre las concentraciones medias de 5-ASA	

5

Las figuras 1 a 7 respectivamente indican:

Figura 1. Perfil cinético del compuesto (IV) tras la administración i.v., 5 mg/kg.

10 Figura 2. Perfil cinético del metabolito 5-ASA tras la administración p.o. del compuesto (IV), 50 mg/kg.

Figura 3. Comparación de los perfiles cinéticos del compuesto (IV) y de su metabolito 5-ASA tras la administración i.v. del compuesto (IV).

15 Figura 4. Perfiles cinéticos del compuesto (IV) tras la administración oral de 50 mg/kg.

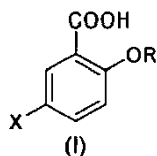
Figura 5. Perfiles cinéticos del metabolito 5-ASA tras la administración oral del compuesto (IV), 50 mg/kg.

20 Figura 6. Comparación de los perfiles cinéticos del compuesto (IV) y de su metabolito 5-ASA tras la administración oral del compuesto (IV).

Figura 7. Comparación de los perfiles cinéticos del compuesto (IV) y de su metabolito 5-ASA tras A) la administración i.v. mg/kg, y B) la administración oral 50 mg/kg del compuesto (IV).

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I):



en el que:

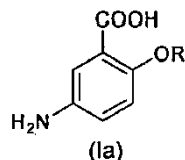
R = alcanoilo de C₄-C₈; y

X=NH-R₁

donde R₁ = H o el grupo terc-butiloxycarbonilo (Boc);

y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, que presenta la fórmula (Ia):



en el que:

R = alcanoilo de C₄-C₈;

y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

3. Ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, preferentemente la sal clorhidrato.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, para su utilización como un medicamento.

5. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, para su utilización en el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales agudas o crónicas seleccionadas preferentemente de entre IBD, IBS, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad diverticular, más preferentemente IBD.

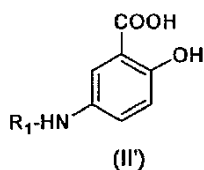
6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3 para su utilización como un medicamento, caracterizado por que se administra por vía entérica, preferentemente por vía oral y/o rectal.

7. Composición farmacéutica que contiene un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable.

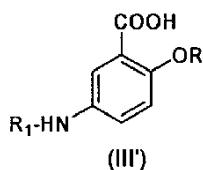
8. Composición farmacéutica según la reivindicación 7, seleccionada de entre comprimido, cápsula, gránulo, microgránulo, suspensión o disolución acuosa, enema, supositorio, gel y espuma rectal.

9. Procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula (Ia), que comprende las etapas siguientes:

a') proteger el 5-ASA con un grupo protector de amina para obtener el compuesto de fórmula (II');



b') acilar el grupo hidroxilo del compuesto de fórmula (II') para obtener el compuesto de fórmula (III');



c') desproteger el grupo amino del compuesto de fórmula (III');

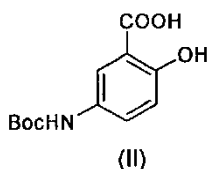
en el que:

R = alcanoílo de C₄-C₈;

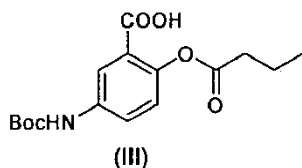
y R₁ es un grupo protector de amina, preferentemente el grupo terc-butiloxycarbonilo (Boc).

10. Procedimiento para la preparación de clorhidrato del ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico que comprende las etapas siguientes:

a) proteger el 5-ASA como un derivado Boc para obtener el compuesto (II);



b) butirilar el grupo hidroxilo del compuesto (II) para obtener el compuesto (III);



c) desproteger el grupo amino del compuesto (III).

11. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, caracterizado por que la etapa a) se lleva a cabo en un disolvente polar aprótico y/o en una mezcla de dicho disolvente con H₂O preferentemente en una relación molar comprendida entre 1:1 y 3:1, más preferentemente 2:1.

12. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, caracterizado por que dicha mezcla está constituida por dioxano y agua, preferentemente en una relación molar 2:1.

13. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, caracterizado por que la etapa a) se lleva a cabo en presencia de una base, preferentemente orgánica, más preferentemente trietilamina, en una relación molar comprendida entre 1:1 y 3:1, preferentemente 1,5:1 con respecto al 5-ASA y/o en presencia de dicarbonato de di-terc-butilo en una relación molar comprendida entre 1:1 y 2:1, preferentemente 1,5:1 con respecto a 5-ASA.

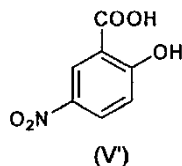
14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, caracterizado por que la etapa b) se lleva a cabo en presencia de un haluro de butirilo, preferentemente cloruro de butirilo y/o anhídrido butírico en una relación molar comprendida entre 1:1 y 3:1, preferentemente 2:1 con respecto al compuesto (II).

15. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, caracterizado por que la etapa b) se lleva a cabo en un disolvente apolar aprótico, seleccionado preferentemente de entre un hidrocarburo alifático o aromático, hidrocarburo alifático halogenado, más preferentemente diclorometano, en presencia de una base, preferentemente orgánica, más preferentemente diisopropiletilamina, preferentemente en una relación molar 3:1 con respecto al compuesto (II).

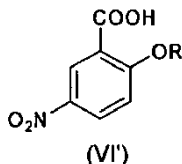
16. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, caracterizado por que la etapa c) se lleva a cabo en un entorno ácido generado preferentemente mediante HCl en un disolvente aprótico, más preferentemente mediante HCl en dioxano o HCl en éter etílico.

17. Procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula (Ia) que comprende las etapas siguientes:

d') acilar el grupo hidroxilo del compuesto de fórmula (V')



5 para obtener el compuesto de fórmula (VI');

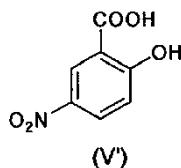


10 e') hidrogenar el grupo nitro del compuesto de fórmula (VI'),
en el que:

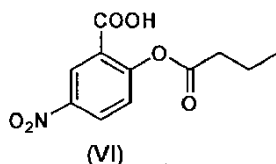
R = alcanoílo de C₄-C₈.

15 18. Procedimiento para la síntesis del ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico que comprende las etapas siguientes:

d) butirilar el compuesto de fórmula (V')



20 para obtener el compuesto (VI);



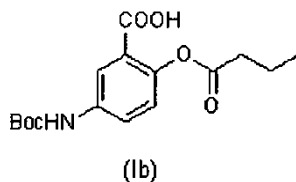
25 e) hidrogenar el compuesto (VI).

19. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 17 o 18, caracterizado por que la etapa d) se lleva a cabo en presencia de anhídrido butírico y/o un haluro de butirilo, preferentemente anhídrido butírico en una relación molar con respecto al compuesto (V') comprendida entre 1:1 y 5:1, preferentemente 3:1.

20. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 17 o 18, caracterizado por que la etapa d) se lleva a cabo en presencia de una catálisis ácida, preferentemente ácido sulfúrico y/o a una temperatura comprendida entre 40°C y 70°C, preferentemente aproximadamente 55°C.

21. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 17 o 18, caracterizado por que la etapa d) se lleva a cabo en un disolvente polar, preferentemente en un alcohol de C₁-C₄, dioxano, tetrahydrofurano y/o mezclas de los mismos, más preferentemente etanol.

22. Compuesto de fórmula (Ib):



23. Utilización de un compuesto según la reivindicación 22, como un producto intermedio en la preparación del ácido 5-amino-2-(butiriloxi)benzoico.

Figura 1. Perfil cinético del compuesto (IV) tras la administración i.v., 5 mg/kg.

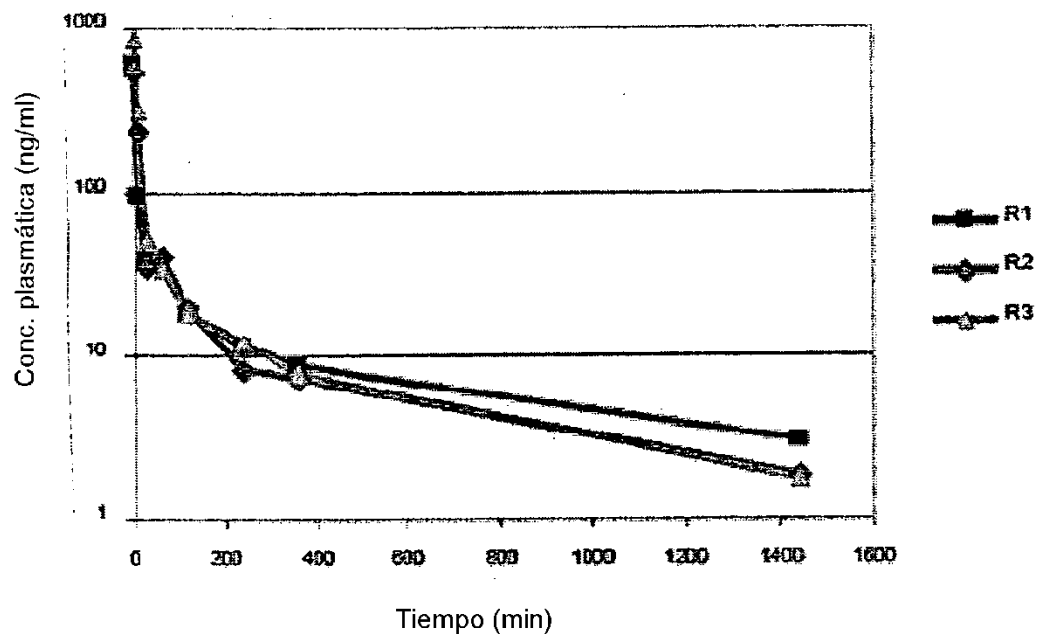


Figura 2. Perfil cinético del metabolito 5-ASA tras la administración i.v. del compuesto (IV), 5 mg/kg.

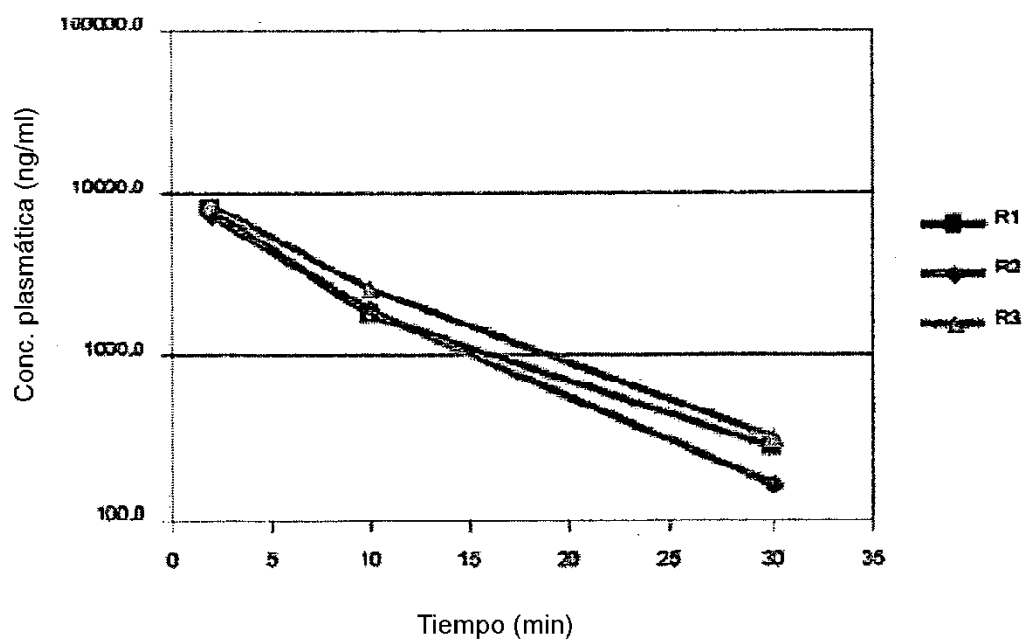


Figura 3. Comparación de los perfiles cinéticos del compuesto (IV) y de su metabolito 5-ASA tras la administración i.v. del compuesto (IV).

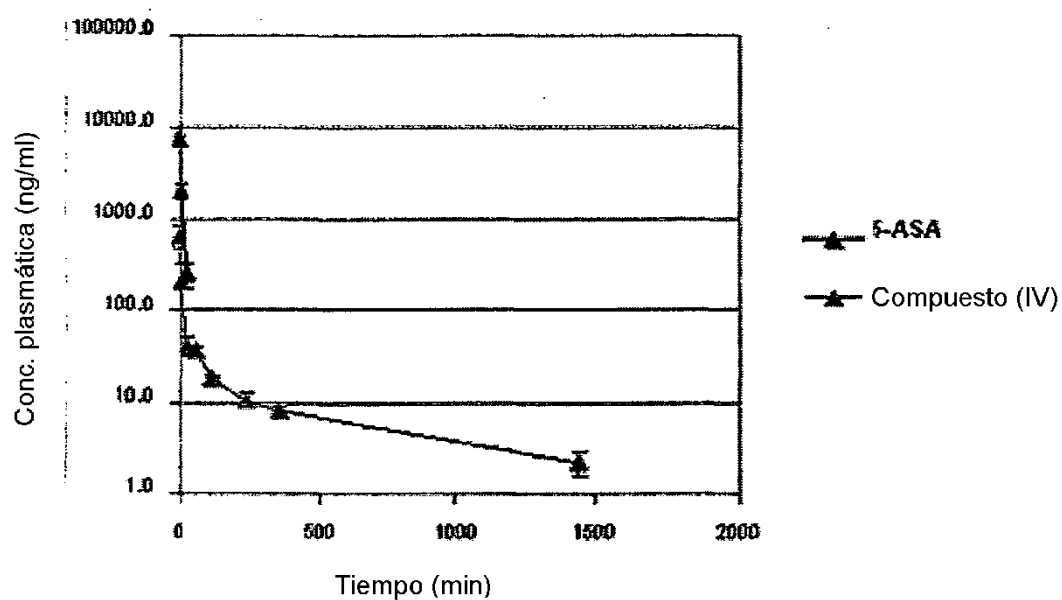


Figura 4. Perfiles cinéticos del compuesto (IV) tras la administración oral de 50 mg/kg.

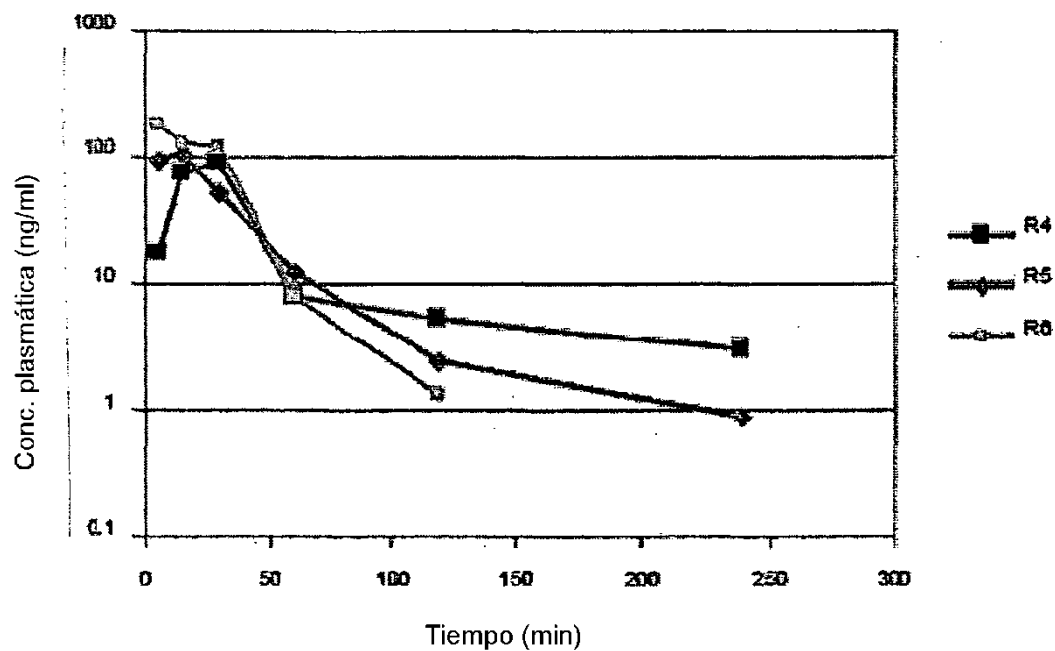


Figura 5. Perfiles cinéticos del metabolito 5-ASA tras la administración oral del compuesto (IV), 50 mg/kg.

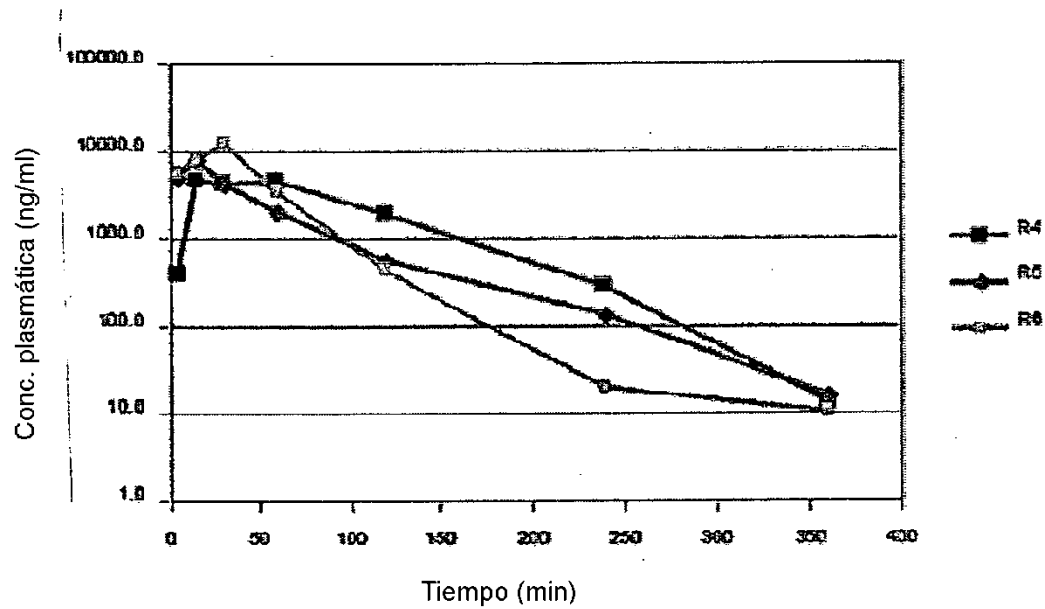


Figura 6. Comparación de los perfiles cinéticos del compuesto (IV) y de su metabolito 5-ASA tras la administración oral del compuesto (IV).

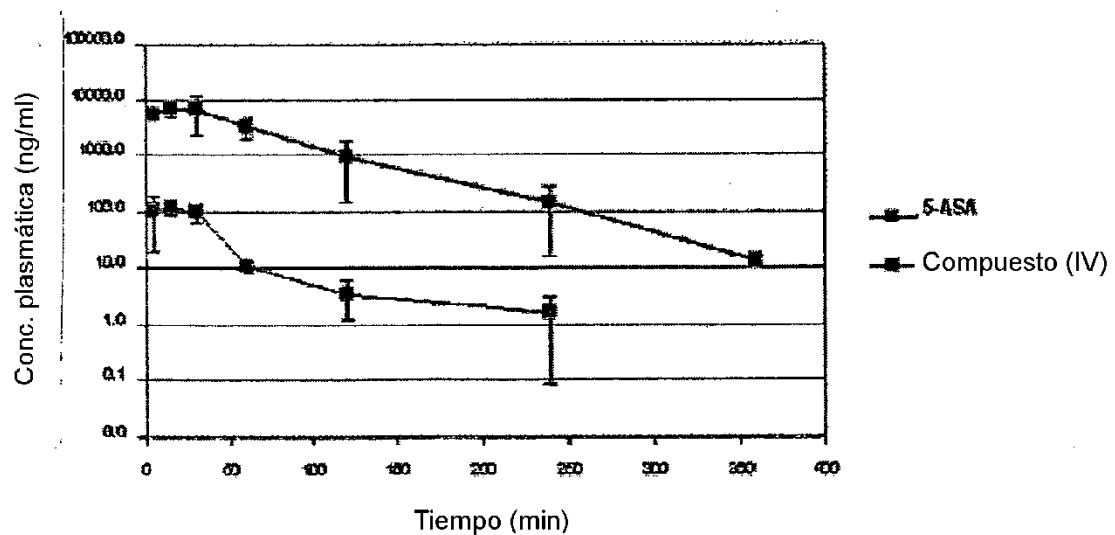
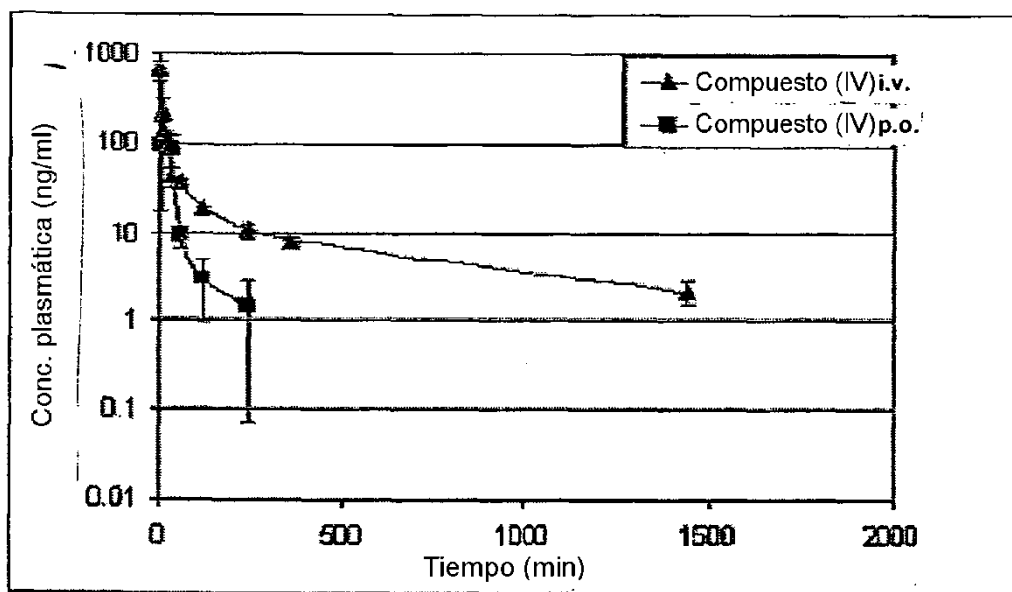
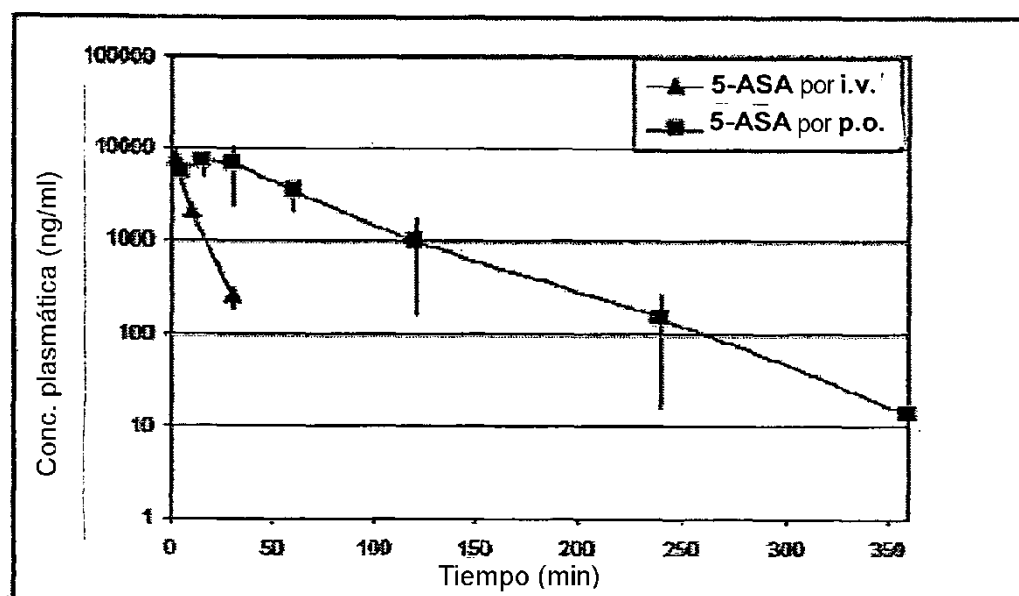


Figura 7. Comparación de los perfiles cinéticos del compuesto (IV) y de su metabolito 5-ASA tras A) la administración i.v. de 5 mg/kg, y B) la administración oral de 50 mg/kg del compuesto (IV).



A



B