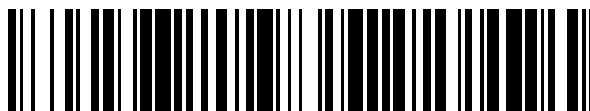


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 686 675**

51 Int. Cl.:

A61K 31/352 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)
A61K 31/382 (2006.01)
C07D 311/58 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.03.2014 PCT/JP2014/059557**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014 WO14157727**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2014 E 14775889 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2979695**

54 Título: **Agente terapéutico para enfermedad ocular**

30 Prioridad:

29.03.2013 JP 2013072979
29.07.2013 JP 2013156602

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.10.2018

73 Titular/es:

ASKAT INC. (100.0%)
4-37-2, Hirojihonmachi, Showa-ku
Nagoya-shi, Aichi 466-0841, JP

72 Inventor/es:

OKUMURA, TAKAKO;
KOIZUMI, SHINICHI y
HARA, HIDEAKI

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 686 675 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

Agente terapéutico para enfermedad ocular

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a ácido (S)-6-cloro-7-(1,1-dimetiletil)-2-trifluorometil-2H-1-benzopiran-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad ocular en un animal que incluye el ser humano.

Técnica anterior

10 Las prostaglandinas tienen un papel importante en el procedimiento de inflamación y la inhibición de producción de prostaglandina, especialmente la producción de PGG₂, PGH₂ y PGE₂, ha sido un objetivo común de descubrimiento de los fármacos antiinflamatorios. Sin embargo, los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) comunes que son activos en la reducción de dolor inducido por prostaglandina e hinchamiento asociado con el procedimiento de inflamación también son activos en afectar otros procesos regulados por la prostaglandina no asociados con el proceso de inflamación. Por lo tanto, el uso de altas dosis de los AINE más comunes puede producir graves efectos secundarios, entre los que se incluyen úlceras amenazantes, que limitan su potencial terapéutico. Una alternativo a 15 los AINE es el uso de corticosteroides, que tienen incluso efectos secundarios más drásticos, especialmente cuando implica una terapia a largo plazo.

20 Los AINE previenen la producción de prostaglandinas mediante la inhibición de enzimas en la vía humana de ácido araquidónico/prostaglandina. La expresión de ciclooxigenasa-2 (COX-2) está específicamente inducida en las afecciones patológicas tales como inflamación, dolor y cáncer, y está implicada en la generación y mantenimiento de estas afecciones. De acuerdo con la línea, se ha desarrollado una serie de fármacos denominados coxibs, tales como celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, parecoxib y etoricoxib.

25 Los fármacos coxib son útiles para el tratamiento de enfermedades mediadas por ciclooxigenasa-2, tales como inflamación, dolor, cáncer, fiebre, osteoartritis, artritis reumatoide, migrañas, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis, asma, lupus y psoriasis, dismenorrea, parto prematuro, gota, espondilitis anquilosante, bursitis, quemaduras por calor, esguince y contusión (referencia de no-patente 1).

30 El benzopirano, naftopirano, la dihidroquinolina, el benzotipirano y derivados de dihidronaftaleno, representados por la fórmula (I) o fórmula (I') tal como se describe en la presente invención se desvelan en las referencias de patente 1 y preferentemente inhiben de forma selectiva la ciclooxigenasa-2 sobre la ciclooxigenasa-1. Entre ellos, el derivado de benzopirano, por ejemplo, proporciona una analgesia más potente y una aparición más rápida de un efecto que el ibuprofeno que resulta la primera elección entre los fármacos convencionales. Además, se ha confirmado en estudios preclínicos que los derivados de benzopirano tiene menos problemas renales que son un objeto de preocupación en los inhibidores de COX-2 convencionales y AINE.

{Lista de citas}

{Referencias de patente}

35 {PL 1} Patente de JP n.º 4577534

{Referencias de No- atente}

{NPL 1} Inflamm Res. agosto de 2000; 49(8):367-92

{Sumario de la invención}

Problemas a resolver por la invención

40 En general, los principios activos implicados en los fármacos coxib tienen un grupo sulfonamida, mientras que un compuesto de fórmula (I) o un compuesto de fórmula (I') es una estructura química única, que no tiene ni grupo sulfonamida ni grupo alquilsulfonilo pero tiene un grupo de ácido carboxílico que puede esterificarse. A continuación, en la presente memoria descriptiva, tales fármacos coxib o compuestos coxib, que no tienen ni grupo sulfonamida ni 45 grupo alquilsulfonilo pero tienen un grupo de ácido carboxílico, se denominan la tercera generación de fármacos coxib o la tercera generación de compuestos coxib. Por lo tanto, la tercera generación de fármacos coxib tienen efectos farmacológicos únicos que jamás se habían visto en los inhibidores de COX-2 convencionales. En la presente invención, el ácido (S)-6-cloro-7-(1,1-dimetiletil)-2-trifluorometil-2H-1-benzopiran-3-carboxílico entra en de la fórmula general (I'), que se denomina como "un compuesto de la presente invención".

Medios para resolver los problemas

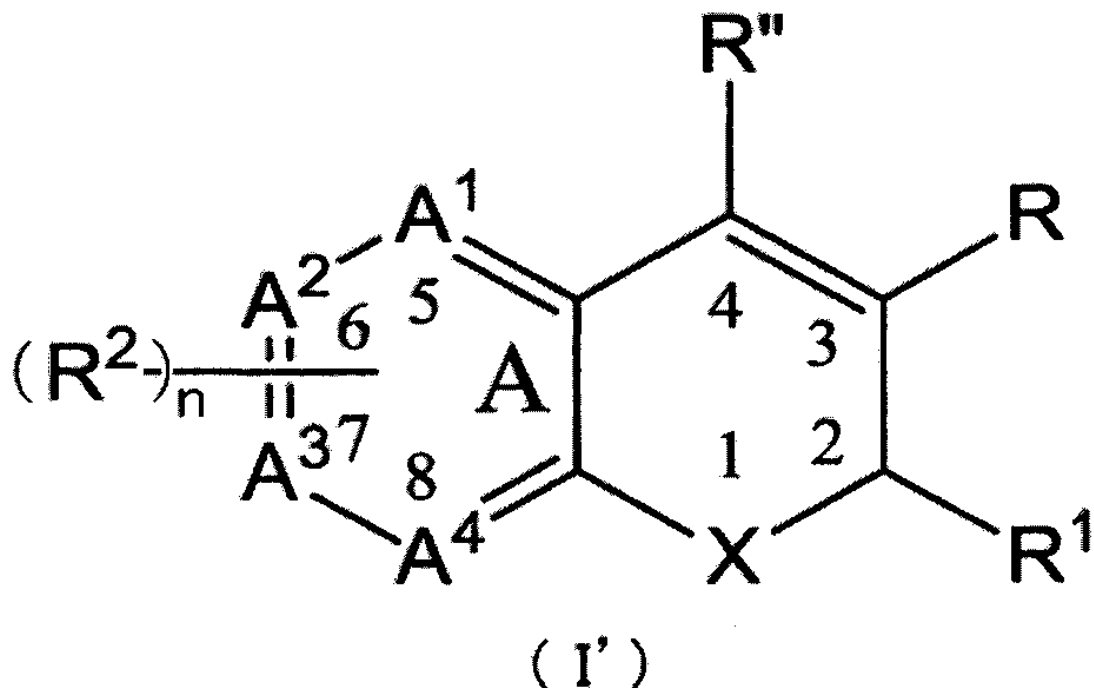
50 Cuando se aplica la tercera generación de inhibidor de COX-2 de fórmula (I) o fórmula (I') a algunos modelos de enfermedad ocular, los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que el ácido (S)-6-cloro-7-(1,1-

dimetiletil)-2-trifluorometil-2H-1-benzopiran-3-carboxílico tiene un efecto excelente frente a la neovascularización coriorretiniana. Los inventores establecen la idea técnica de que el compuesto de la presente invención es útil para enfermedades oculares y han completado la presente invención mediante exámenes adicionales.

En general, - el compuesto de la presente invención entra en la fórmula general (I') con la siguiente estructura

5

{Quim. 1}



en la que

- X se selecciona entre O, S y NR^a;
- R^a se selecciona de hidrido; alquilo C₁-C₃; (opcionalmente sustituido fenil)-metilo; y fenilmetilo; en la que el anillo de fenilo está sustituido por 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₆, hidroxilo, halo, haloalquilo C₁-C₆, nitro, ciano, alcoxi-C₁-C₆ y alquilamino-C₁-C₆;
- R es carboxilo;
- Rⁿ se selecciona entre hidrido y C₂-C₆-alqueno;
- R¹ se selecciona de perfluoroalquil-C₁-C₃, cloro, alquiltio-C₁-C₆, nitro, ciano y ciano-C₁-C₃-alquilo;
- R² es uno o más radicales seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrido; halo; alquilo C₁-C₆; alqueno- C₂-C₆; alquino-C₂-C₆; haloalquino-C₂-C₆; fenilalquilo-C₁-C₆; fenilalquino-C₂-C₆; haloalquino-C₂-C₆; alcoxi-C₁-C₆-fenilo-alquino-C₂-C₆, fenilalqueno-C₂-C₆; alcoxi C₁-C₃; metilendioxo; alcoxi-C₁-C₃-alquilo-C₁-C₃; alquiltio-C₁-C₃; alquilsulfonilo-C₁-C₃; fenilo; feniltio; fenilsulfonilo; haloalquilo-C₁-C₃-hidroxialquilo-C₁-C₃; fenilo, alcoxi-C₁-C₃-alquilo-C₁-C₃; haloalquilo-C₁-C₃; haloalcoxi-C₁-C₃; haloalquiltio-C₁-C₃; hidroxialquilo-C₁-C₃; hidroxihaloalquilo C₁-C₃; hidroximinoalquilo-C₁-C₃; alquilamino-C₁-C₆; nitro; ciano; amino; aminosulfonilo; N-(alquil-C₁-C₆)aminosulfonilo; N-arilaminosulfonilo; N-heteroarilaminosulfonilo; N-(fenilalquil-C₁-C₆)aminosulfonilo; N-(heteroaril-C₁-C₆-alquil)aminosulfonilo; fenilalquilsulfonilo-C₁-C₃; heterocicilsulfonilo de 5 a 8 miembros; alquilsulfonilo-C₁-C₆; fenilo; fenilo opcionalmente sustituido por uno o más radicales seleccionado de cloro, fluoro, bromo, metoxi, metiltio y metilsulfonilo; heteroarilo de 5 a 9 miembros; cloro sustituido con tienilo; fenilalquilcarbonilo-C₁-C₆; fenilcarbonilo; 4-clorofenilcarbonilo; 4-hidroxifenilcarbonilo; 4-trifluorometil-fenilcarbonilo; 4-metoxifenilcarbonilo; aminocarbonilo; formilo; y alquilcarbonilo-C₁-C₆;
- o R² junto con el anillo A forma un radical de naftilo, benzofurilfenilo o quinolilo;
- el anillo A átomos A¹, A², y A³ son carbono y A⁴ es carbono o nitrógeno;
- n es un número entero seleccionado entre 1 a 4;
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

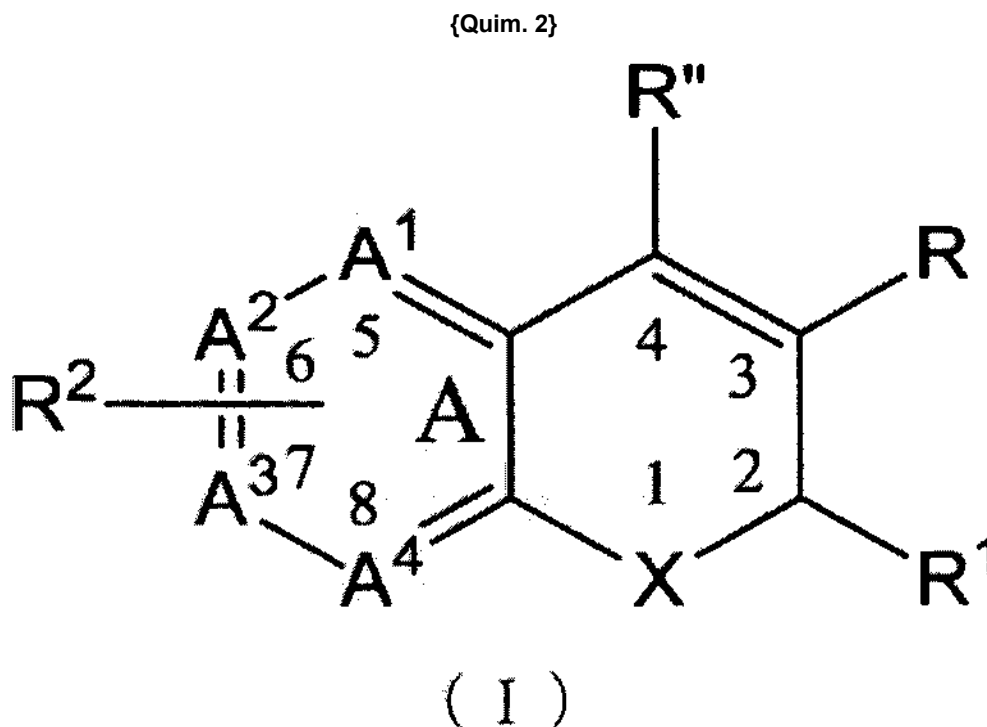
Un compuesto tal como se ha descrito anteriormente, en el que

- R^a se selecciona de hidrido; metilo; etilo; (4-trifluorometil)bencilo; (4-clorometil)bencilo; (4-metoxi)bencilo; (4-ciano)bencilo; y (4-nitro)bencilo;
- Rⁿ se selecciona entre hidrido y etenilo;
- R¹ se selecciona entre trifluorometilo y pentafluoroetilo;
- R² es uno o más radicales seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrido; cloro;

35

bromo; fluoro; yodo; metilo; *terc*-butilo; etenilo; etinilo; 5-cloro-1-pentinilo; 1-pentinilo; 3,3-dimetil-1-butinilo; bencilo; feniletilo; feniletinilo; 4-clorofenil-etenilo; 4-metoxifenil-etenilo; feniletenilo; metoxi; metiltio; metilsulfonilo; feniloxi; feniltio; fenilsulfonilo; metilenodioxi; benciloximetilo; trifluorometilo; difluorometilo; pentafluoroetilo; trifluorometoxi; trifluorometiltio; hidroximetilo; hidrox-trifluoroetilo; metoximetilo; hidroximinometilo; N-metilamino; nitro; ciano; amino; aminosulfonilo; N-metilaminosulfonilo; N-fenilaminosulfonilo; N-furilaminosulfonilo; N-(bencil)aminosulfonilo; N-(furilmetil)aminosulfonilo; bencilsulfonilo; feniletilaminosulfonilo; furilsulfonilo; metilsulfonilo; fenilo; fenilo sustituido con uno o más radicales seleccionado de cloro, fluoro, bromo, metoxi, metiltio y metilsulfonilo; bencimidazolilo; furilo; tienilo; tienilo sustituido con cloro; bencilcarbonilo; fenilcarbonilo; aminocarbonilo; formilo; y metilcarbonilo.

10 El compuesto de la presente invención también entra en la fórmula general (I) y tiene la siguiente estructura:



en el que

- X se selecciona entre O, S y NR^a;
- 15 R^a se selecciona de hidrido, alquilo C₁-C₃, (opcionalmente sustituido fenil)-metilo y fenilmetilo; en la que el anillo de fenilo está sustituido por 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁-C₆, hidroxilo, halo, haloalquilo C₁-C₆, nitro, ciano, alcoxi-C₁-C₆ y alquilamino-C₁-C₆;
- R es carboxilo;
- Rⁿ se selecciona entre hidrido y C₂-C₆-alqueno;
- 20 R¹ se selecciona de perfluoroalquil-C₁-C₃, cloro, alquiltio-C₁-C₆, nitro, ciano y ciano-C₁-C₃-alquilo;
- R² es uno o más radicales seleccionado independientemente entre hidrido; halo; alquilo C₁-C₆; alqueno C₂-C₆; alquinilo-C₂-C₆; haloalquinilo-C₂-C₆; fenilalquilo C₁-C₆; fenilalquinilo-C₂-C₆; fenilalqueno C₂-C₆; alcoxi C₁-C₃; metilenodioxi; alcoxi-C₁-C₃-alquilo-C₁-C₃; alquiltio-C₁-C₃; alquilsulfonilo-C₁-C₃; feniloxi; feniltio; fenilsulfonilo; haloalquilo-C₁-C₃-hidroxialquilo-C₁-C₃; fenilo, alcoxi-C₁-C₃-alquilo-C₁-C₃; haloalquilo-C₁-C₃; haloalcoxi-C₁-C₃; haloalquiltio-C₁-C₃; hidroxialquilo-C₁-C₃; hidroximinoalquilo-C₁-C₃; aquilamino-C₁-C₆; nitro; ciano; amino; aminosulfonilo; N-(alquil-C₁-C₆)aminosulfonilo; N-arilaminosulfonilo; N-heteroarilaminosulfonilo; N-(fenilalquil-C₁-C₆)aminosulfonilo; N-(heteroaril-C₁-C₆-alquil)aminosulfonilo; fenilalquilsulfonilo-C₁-C₃; heterocicilsulfonilo de 5 a 8 miembros; alquilsulfonilo-C₁-C₆; fenilo; fenilo opcionalmente sustituido por uno o más radicales seleccionado de cloro, fluoro, bromo, metoxi, metiltio y metilsulfonilo; heteroarilo de 5 a 9 miembros; cloro sustituido con tienilo; fenilalquilcarbonilo-C₁-C₆; fenilcarbonilo; 4-clorofenilcarbonilo; 4-hidroxifenilcarbonilo; 4-trifluorometilfenilcarbonilo; 4-metoxifenilcarbonilo; aminocarbonilo; formilo; y alquilcarbonilo-C₁-C₆; el anillo A átomos A¹, A², y A³ son carbono y A⁴ es carbono o nitrógeno; o
- 30 R² junto con el anillo A forma un radical de naftilo, benzofurilfenilo o quinolilo.

Efecto de la invención

- 35 Como se ha mencionado anteriormente, se conocen muchos de los inhibidores de COX-2, pero la tercera generación de inhibidores de COX-2 de la presente invención, en comparación con los inhibidores de COX-2 convencionales, muestran un efecto excelente frente a la actividad inhibitoria de neovascularización coriorretiniana.

Concretamente, en estudios de evaluación de actividades inhibitorias frente a neovascularización coriorretiniana, un compuesto de la presente invención inhibe completamente sucesos acompañados con neovascularización coriorretiniana para controlar los niveles. Por lo tanto, es particularmente útil para prevenir o tratar una enfermedad ocular acompañada con neovascularización.

- 5 De manera más específica, el compuesto de la presente invención es útil como un agente profiláctico y/o terapéutico para la degeneración macular senil, retinopatía del prematuro, vasculopatía coroidea polipoidea, retinopatía proliferativa isquémica, retinosis pigmentaria, distrofia de conos y bastones, vitreoretinopatía proliferativa, oclusión de arteria retinal, oclusión de vena retinal, queratitis, conjuntivitis, uveítis, enfermedad de Leber, desprendimiento de retina, desprendimiento de epitelio pigmentario de la retina, neovascularización corneal, neovascularización retinocoroidea. Además, un compuesto de la presente invención es útil para proporciona una composición farmacéutica para prevenir o tratar dichas enfermedades.

Breve descripción de los dibujos

- 15 {Figura 1} La Figura 1 muestra la media y error estándar en estudios de evaluación de actividades inhibitorias frente a neovascularización retinal del compuesto de la presente invención, el ácido (S)-6-cloro-7-(1,1-dimetiletil)-2-trifluorometil-2H-1-benzopiran-3-carboxílico (n=6), indicado como compuesto A. ###:P<0,01, **:P<0,01 (Compuesto A frente a vehículo en ensayo de Dunnet).

- 20 {Figura 2} La Figura 2 muestra la media y error estándar en estudios de evaluación de actividades inhibitorias frente a neovascularización retinal en la que el Compuesto A es ácido (S)-6-cloro-7-(1,1-dimetiletil)-2-trifluorometil-2H-1-benzopiran-3-carboxílico (n=7-11). N.S. significa no diferencia significativa. *:P<0,05 (Compuesto A frente a disolvente en ensayo de Dunnet).

{Figura 3} La Figura 3 muestra imágenes de especímenes histopatológicos.

Descripción de las realizaciones

En lo sucesivo en el presente documento, se describirán las definiciones de expresiones y oraciones (átomos, grupos, anillos, etc.) que se van a usar en la presente memoria descriptiva.

- 25 Tal como se usa en compuestos representados por la fórmula (I) o la fórmula (I'), la expresión "alquilo" como un grupo o parte de un grupo, por ejemplo, alcoxi o hidroxialquilo se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado en todas sus formas isoméricas.

- 30 El término "alquilo C₁-C₆" se refiere a un grupo alquilo, tal como se representa por la fórmula (I) o la fórmula (I'), que contiene por lo menos 1, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo y similares.

El término "alqueno C₂-C₆" se refiere a un grupo alqueno, tal como se representa por la fórmula (I) o la fórmula (I'), que contiene por lo menos 2, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alqueno incluyen vinilo, 1-propenilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, pentenilo, hexenilo y similares.

- 35 El término "alquino C₂-C₆", se refiere a un grupo alquino, tal como se representa por la fórmula (I) o la fórmula (I'), que contiene por lo menos 2, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alquino incluyen etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 3-butinilo, pentinilo, hexinilo y similares.

En un compuesto representado por la fórmula (I) o la fórmula (I'), el término "halógeno" se refiere a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I) y el término "halo" se refiere al halógeno: fluoro (-F), cloro (-Cl), bromo (-Br) y yodo (-I).

- 40 Como el término "heteroanillo" en un heteroarilo, heterociclilo de 5 a 8 miembros y heteroarilo de 5 a 9 miembros en la definición de fórmula (I) o fórmula (I'), heteroanillo de 5 a 6 miembros que contiene de uno a tres seleccionados entre O, N y S, ilustrado por furilo, tienilo, piridilo, tiazolilo y similares son preferentes. Estos grupos pueden estar sustituidos con sustituyentes convencionales tales como grupo alquilo inferior C₁-C₆, grupo hidroxilo, grupo amino, grupo carboxilo y halógeno. Además, el anillo de heterociclilo de 5 a 8 miembros y el heteroarilo de 5 a 9 miembros puede ser un grupo bicíclico tal como bencimidazolilo.

- 45 En un compuesto representado por la fórmula (I) o la fórmula (I'), el término "alcoxi C₁-C₆" se refiere a un grupo alcoxi que contiene al menos 1, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alcoxi incluyen grupo metoxi, grupo etoxi, grupo propoxi normal, grupo isopropoxi, grupo butoxi normal, grupo butoxi secundario, grupo butoxi terciario, grupo pentilo normal, grupo isopentilo, grupo pentilo terciario, grupo neopentilo, grupo 2,3-dimetilpropilo, grupo 1-etilpropilo, grupo 1-metilbutiloxi, grupo hexiloxi normal, grupo isohexiloxi, grupo 1,1,2-trimetilpropiloxi y similares;

- 50 el término "alquiltío C₁-C₆" se refiere a un grupo alquiltío que contiene al menos 1, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alquiltío incluyen grupo metiltío, grupo etiltío, grupo propiltío normal, grupo isopropiltío, grupo butiltío normal, grupo butiltío secundario, grupo butiltío terciario, grupo pentiltío normal, grupo isopentiltío, grupo pentiltío terciario, grupo neopentiltío, grupo 2,3-dimetilpropiltío, grupo 1-etilpropiltío, grupo 1-

metilbutiltío, grupo hexiltío normal, grupo isohexiltío, grupo 1,1,2-trimetilpropiltío y similares;

el término "alquilsulfino C_1-C_3 " se refiere a un grupo alquilsulfino que contiene al menos 1, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alquilsulfino incluyen grupo metilsulfino, grupo etilsulfino, grupo propilsulfino normal, grupo isopropilsulfino y similares;

5 el término "alquilsulfonilo C_1-C_6 " se refiere a un grupo alquilsulfonilo que contiene al menos 1, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alquilsulfonilo incluyen grupo metilsulfonilo, grupo etilsulfonilo, grupo propilsulfonilo normal, grupo isopropilsulfonilo, grupo butilsulfonilo normal, grupo butilsulfonilo secundario, grupo butilsulfonilo terciario, grupo pentilsulfonilo normal, grupo isopentilsulfonilo, grupo pentilsulfonilo terciario, grupo neopentilsulfonilo, grupo 2,3-dimetilpropilsulfonilo, grupo 1-etilpropilsulfonilo, grupo 1-metilbutilsulfonilo, grupo
10 hexilsulfonilo normal, grupo isohexilsulfonilo, grupo 1,1,2-trimetilpropilsulfonilo y similares;

el término "alquilcarbonilo C_1-C_6 " se refiere a un grupo alquilcarbonilo que contiene al menos 1, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alquilcarbonilo incluyen grupo acetilo, grupo propanoilo, grupo butanoilo, grupo 2-metil-propanoilo, grupo pentanoilo, grupo 2-metilbutanoilo, grupo 3-metilbutanoilo y similares; y

15 el término "alquilamino C_1-C_6 " se refiere a un grupo alquilamino que contiene al menos 1, y como mucho 6 átomos de carbono. Ejemplos de tales grupos alquilamino incluyen grupo metilamino, grupo etilamino, grupo propilamino, grupo isopropilamino, grupo dimetilamino, grupo dietilamino, grupo etilmetilamino, grupo dipropilamino, grupo metilpropilamino, grupo diisopropilamino y similares.

20 Por ejemplo, la tercera generación de compuesto coxib representado por la fórmula (I) o fórmula (I') se describe en el Documento de patente 1 (Patente japonesa n.º 4577534) y similares. Un compuesto de fórmula (I) o fórmula (I') o una sal del mismo puede prepararse fácilmente mediante procedimiento conocidos o procedimiento conocidos *per se*.

Tal como se indica en la reivindicación 1, el término "enfermedad ocular" en la presente invención se refiere a enfermedades oculares acompañadas con enfermedad degenerativa coriorretiniana o neovascularización.

La coriorretiniana es una organización combinada de retina y coroide.

25 Ejemplos de una enfermedad ocular acompañada con neovascularización ocular pueden incluir, degeneración macular senil o similares y, por lo tanto, un compuesto de la presente invención es útil como un agente profiláctico y/o terapéutico para la degeneración macular senil, retinopatía del prematuro, vasculopatía coroidea polipoidea, retinopatía proliferativa isquémica, retinosis pigmentaria, distrofia de conos y bastones, vitreoretinopatía proliferativa, oclusión de arteria retinal, oclusión de vena retinal, queratitis, conjuntivitis, uveítis, enfermedad de Leber,
30 desprendimiento de retina, desprendimiento de epitelio pigmentario de la retina, neovascularización corneal, neovascularización retinocoroidea.

En términos de sales farmacéuticamente aceptables del compuesto representado por la fórmula (I) o la fórmula (I'), la naturaleza de la sal no es importante, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. Sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables del compuesto representado en la fórmula (I) o la fórmula (I') pueden prepararse a partir de un ácido inorgánico adecuado o a partir de un ácido orgánico adecuado. Ejemplos de tales ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Ejemplos de tales ácidos orgánicos se seleccionan entre clases alifáticas, cicloalifáticas, aromáticas, aralifáticas, heterocíclicas, carboxílicas y sulfónicas de ácidos orgánicos, que se ilustran por ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tarátrico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumático, pirúvico,
40 aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, salicílico, salicílico, 4-hidroxi benzoico, fenilacético, mandélico, embónico, pamoico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, 2-hidroxietanosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, algénico, β -hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico. Sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos representador por la fórmula (I) y la fórmula (I') incluyen sales de metal, tales como sales producidas de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc, o sales producidas a partir de bases orgánicas que incluyen aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas cíclicas, tales como cafeína, arginina, dietilamina, N-etilpiperidina, histidina, glucamina, isopropilamina, lisina, morfina, N-etilmorfina, piperazina, piperidina, trietilamina y trimetilamina. Todas las sales descritas anteriormente pueden prepararse a partir del compuesto representado por la fórmula (I) o la fórmula (I') y un ácido adecuado o una base adecuada mediante procedimiento
50 convencionales. Entonces, un grupo carboxilo esterificado incluye preferentemente un grupo capaz de convertirse a un grupo carboxilo mediante hidrólisis *in vivo* (por ejemplo, grupo t-butoxicarbonilo). Puesto que tales grupos que pueden convertirse fácilmente a un grupo carboxilo mediante hidrólisis *in vivo* están convencionalmente bien establecidos, la presente invención puede fabricar de acuerdo con tales bien establecidas técnicas en términos del tipo, fabricación y similares.

55 Los compuestos descritos que contienen uno o más átomos de carbono asimétricos pueden existir como dos o más estereoisómeros. Cuando un compuesto descrito contiene un grupo alqueno o alqueno, los isómeros *cis/trans* (o *Z/E*) geométricos son posibles. Cuando el compuesto contiene, por ejemplo, un grupo ceto o oxima o un resto aromático, puede producirse un isomerismo tautomérico ('tautomerismo'). Por lo tanto un único compuesto puede mostrar más de un tipo de isomerismo.

60 Incluidas dentro del ámbito de la presente invención se encuentran sales de adición de ácido o sales de base en las

que el contraión está ópticamente activo, por ejemplo, D-lactato o L-lisina, o racémico, por ejemplo, DL-tartrato o DL-arginina.

Los isómeros cis/trans pueden separarse mediante técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, por ejemplo, cromatografía y cristalización fraccional.

- 5 Las técnicas convencionales para la preparación/aislamiento de los enantiómeros individuales incluyen síntesis quirál a partir de un precursor ópticamente puro adecuado o resolución del racemato (o el racemato de una sal o derivado) usando, por ejemplo, cromatografía líquida quirál de alta presión (HPLC).

10 Como alternativa, el racemato (o un precursor racémico) puede hacerse reaccionar con un compuesto ópticamente activo adecuado, por ejemplo, un alcohol, o, en el caso de que el compuesto contenga un resto ácido o básico, un ácido o base, tal como ácido tartárico o 1-feniletilamina. La mezcla diastereomérica resultante puede separarse por cromatografía y/o cristalización fraccionada y uno o los dos diastereoisómeros puede convertirse en los enantiómeros puros correspondientes por medios bien conocidos por un experto en la materia.

15 El compuesto quirál de la presente invención (y sus precursores quirales) pueden obtenerse en forma enantioméricamente enriquecida usando cromatografía, típicamente HPLC, sobre una resina asimétrica con una fase móvil que contiene del 0 al 50 % (p/p), típicamente etanol y 2-propanol del 2 % al 20 % (p/p), y ácido carboxílico del 0 al 5 % (p/p), típicamente hidrocarburo que incluye ácido acético del 0,1 al 0,5 % (p/p), típicamente heptano o hexano. La concentración del eluato proporciona la mezcla enriquecida.

20 De manera más específica, puede usarse ácido heptano/2-propanol/trifluoroacético (95/5/0,1), ácido heptano/2-propanol/acético (90/10/0,1), heptano/2-propanol/acetato (90/10/0,5), ácido heptano/etanol/acético (95/5/0,1) o similares para la dicha fase móvil.

Los conglomerados estereoisoméricos pueden separarse por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia - véase, por ejemplo, Stereochemistry of Organic Compounds de E L Eliel (Wiley, Nueva York, 1994).

25 La presente invención incluye todos los compuestos marcados isotópicamente farmacéuticamente aceptables de la presente invención en los que uno o más átomos se reemplaza por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza.

30 Los ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos de la presente invención incluyen isótopos de hidrógeno tales como ^2H y ^3H , carbono tal como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , cloruro tal como ^{38}Cl , flúor tal como ^{18}F , yodo tal como ^{125}I y ^{125}I , nitrógeno tal como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno tal como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , fósforo tal como ^{32}P y sulfuro tal como ^{35}S .

35 Determinados compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo, los que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución de tejido de fármaco y/o sustrato asociados con la terapia del cáncer que incluye el diagnóstico, alivio de síntomas, mejora de calidad de vida y profilaxis. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ^3H y carbono-14, es decir, ^{14}C , son particularmente útiles para este fin en vista de su facilidad de incorporación y sencillos medios de detección.

La sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas que son el resultado de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un aumento de la semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación y, por lo tanto, puede preferirse en algunas circunstancias.

40 La sustitución con isótopos que emiten positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , puede ser útil en estudios de Tomografía por Emisión de Positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor en el sustrato.

Los compuestos marcados isotópicamente de la presente invención pueden prepararse generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procedimientos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos usando un reactivo marcado isotópicamente adecuado en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

45 Disolventes farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la presente invención incluyen los que en el disolvente para su cristalización puede sustituirse isotópicamente, por ejemplo, D_2O , d_6 -acetona y d_6 -DMSO.

50 El compuesto de la presente la invención destinado para su uso farmacéutico se puede administrar como productos cristalinos o amorfos. Pueden obtenerse, por ejemplo, en forma de agregados sólidos, polvos o películas según procedimientos tales como precipitación, cristalización, criodesecación, secado por pulverización y secado evaporativo. Para este fin, puede usarse secado por microondas o radiofrecuencia.

El compuesto de la presente invención muestra un efecto excelente en un estudio sobre la formación de lumen en HUVEC (células endoteliales de la vena umbilical humana), estudio de crecimiento células endoteliales microvasculares de la retina humana (HRMEC) inducidas por VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) y un estudio sobre migración de HRMEC inducidas por VEGF según en estudios de evaluación *in vivo* de actividades

inhibitorias frente a la neovascularización de la retina.

En un modelo de ratón de neovascularización coroidea inducida por irradiación láser de criptón y un modelo de neovascularización de retina inducida por hiperoxia según estudios *in vivo*, el compuesto de la presente invención muestra un efecto inhibitorio excelente sobre la neovascularización coroidea mediante administración intravítrea.

- 5 En relación con esto, este modelo se considera como un modelo de una enfermedad inflamatoria ocular y/o un modelo de una enfermedad de la retina por degeneración macular senil o similares y, por lo tanto, un compuesto de la presente invención es útil como un agente profiláctico y/o terapéutico para la degeneración macular senil, retinopatía del prematuro, vasculopatía coroidea polipoidea, retinopatía proliferativa isquémica, retinosis pigmentaria, distrofia de conos y bastones, vitreoretinopatía proliferativa, oclusión de arteria retinal, oclusión de vena retinal, queratitis, conjuntivitis, uveítis, enfermedad de Leber, desprendimiento de retina, desprendimiento de epitelio pigmentario de la retina, neovascularización corneal, neovascularización retinocoroidea.

- 15 El presente compuesto puede administrarse por vía oral o parenteral. Ejemplos del modo de administración incluyen administración oral, administración tópica oftálmica (tal como administración con colirio, instilación en el saco conjuntival, administración intravítrea, administración subconjuntival y administración de sub-Tenon), administración intravenosa, administración transdérmica y el presente compuesto puede formularse en una preparación adecuada para tal modo de administración seleccionando de forma adecuada y usando un aditivo farmacéuticamente aceptable según se precise.

- 20 Ejemplos de la forma de dosificación incluyen, en el caso de una preparación oral, un comprimido, una cápsula, gránulos, polvos y, en el caso de una preparación parenteral, una inyección, un colirio, un ungüento oftálmico, un inserto y un implante intraocular.

- 25 Por ejemplo, en el caso de un comprimido, una cápsula, un granulado, un polvo o similares, tal preparación puede prepararse seleccionando de forma adecuada y usando un excipiente tal como lactosa, glucosa, D-manitol, hidrogenofosfato cálcico anhidro, almidón o sacarosa; un disgregante tal como carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, croscarmelosa sódica, crospovidona, almidón, almidón pregelatinizado parcialmente o hidroxipropilcelulosa poco sustituida; un aglutinante tal como hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa, goma arábiga, almidón, almidón parcialmente gelatinizado, polivinilpirrolidona o polialcohol vinílico; un lubricante como estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, dióxido de silicio hidratado o un aceite hidrogenado; un agente de revestimiento tal como sacarosa purificada, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa o polivinilpirrolidona; un corrector como el ácido cítrico, aspartamo, ácido ascórbico o mentol; o similares según se precise.

- 30 Se puede preparar una inyección seleccionando de forma adecuada y usando un agente de tonicidad tal como cloruro de sodio; un tampón tal como fosfato de sodio; un tensioactivo tal como monooleato de polioxietilensorbitán; un agente de aumento de la viscosidad tal como metilcelulosa; o similares según se precise.

- 35 Se puede preparar un colirio seleccionando de forma adecuada y usando un agente de tonicidad tal como cloruro de sodio o glicerina concentrada; un tampón tal como fosfato de sodio o acetato de sodio; un tensioactivo tal como monooleato de polioxietilensorbitán, estearato de polioxilo 40 o aceite de ricino de polioxietileno hidrogenado; un estabilizante tal como citrato de sodio o edetato de sodio; un preservante tal como cloruro de benzalconio o parabeno; o similares según se precise. Se permite el pH del colirio siempre y cuando entre en el intervalo que sea aceptable como preparación oftálmica, pero está preferiblemente en el intervalo de 4 a 8 y más preferentemente en el intervalo de 5 a 7. Como agente de ajuste de pH, se puede usar un agente de ajuste de pH normal, por ejemplo, hidróxido de sodio y/o ácido clorhídrico.

- 40 El material del recipiente resinoso consiste esencialmente en polietileno. El material del recipiente puede contener pequeñas cantidades de otros materiales distintos de polietileno, por ejemplo, polipropileno, tereftalato de polietileno, cloruro de polivinilo, resinas acrílicas, poliestireno, metacrilato de polimetilo y nailon 6. La cantidad de dichos materiales es preferentemente no más de aproximadamente el 5 al 10 % del material del recipiente total. El polietileno se clasifica en varios tipos por la densidad del mismo, a saber, polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno de densidad media (MDPE), polietileno de alta densidad (HDPE), etc. y estos polietilenos están incluidos en la presente invención. El polietileno preferente es LDPE.

- 45 Los recipientes para el envasado y almacenamiento de la solución oftálmica acuosa según la invención incluyen todas las formas de recipiente adecuadas para un suministro oftálmico tópico intuitivo para el usuario. En consecuencia, los recipientes pueden seleccionarse, por ejemplo, entre el grupo que consiste en botellas, tubos, ampollas, pipetas y dispensadores de fluido, una forma de dosis unitaria única o en forma multidosis. De acuerdo con una realización preferente de la invención, la solución oftálmica acuosa se encuentra en una dosis única o una forma de dosis unitaria.

- 50 Los recipientes para la solución oftálmica de acuerdo con la invención se fabrican preferentemente mediante procedimiento de moldeado por soplado de extrusión. El moldeado por soplado de extrusión proporciona una superficie interna más suave del recipiente en comparación con el moldeado por soplado de inyección, que se usa comúnmente para fabricar, por ejemplo, botellas multidosis de polietileno. Cuanto más suave sea la superficie

- interna proporciona mejor estabilidad química de las prostaglandinas en el recipiente de polietileno en comparación con el recipiente de polietileno fabricado mediante moldeado por soplado de inyección. Además, cuando se usan recipientes de una única dosis, se esterilizan durante el procedimiento de moldeado mediante calor y no se necesita la esterilización adicional de los recipientes, lo que también mejora la estabilidad de las prostaglandinas en un recipiente de dosis única (véase el documento 1 825 855 y el documento EP 1 349 580). En general, se carga un recipiente oftálmico de dosis unitaria fabricado mediante procedimiento de moldeado por soplado tiene un volumen de aproximadamente 1 ml a aproximadamente 0,2 a 0,5 ml de la solución. Se conoce una gran variedad de formas en tales recipientes. Ejemplos típicos se observan en los documentos US 5.409.125 y US 6.241.124.
- Aunque son preferentes los recipientes de dosis unitaria para los fines de la invención, la solución oftálmica acuosa de acuerdo con la invención permanece soluble, estable y biodisponible en dispensadores de fluido para dispensar pequeñas cantidades de fluido libre de gérmenes o en cualquier otro tipo de recipiente en el que la solución oftálmica acuosa esté en contacto con el material del recipiente que consiste esencialmente en polietileno. Tales dispensadores de fluido se desvelan, por ejemplo, en el documento US 5.614.172.
- La solución oftálmica acuosa sin conservantes de acuerdo con la invención puede almacenarse a temperatura ambiente en los recipientes adecuados anteriormente mencionados, que incluyen pipetas y dispensadores de dosis unitaria.
- Una realización preferente de acuerdo con la invención es una solución oftálmica acuosa para tratar la hipertensión ocular y glaucoma, que comprende del 0,0001 - 0,01 % p/v de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (I') o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo;
- del 0,05 - 0,5 % p/v de tensioactivo no iónico;
- del 0,005 - 0,2 % p/v de agente estabilizante;
- sin sustancialmente conservantes y opcionalmente agentes tamponadores, ajustadores del pH y agente de tonicidad usados convencionalmente en soluciones oftálmicas, en un recipiente que consiste esencialmente en polietileno.
- Puede prepararse un ungüento oftálmico usando una base ampliamente usada tal como petrolato blanco o parafina líquida.
- Puede prepararse un inserto usando un polímero biodegradable tal como hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, un polímero carboxivinílico o un ácido poliacrílico, y si se precisa, un excipiente, un aglutinante, un estabilizante, un agente de ajuste del pH o similar puede seleccionarse de forma adecuada y usarse según sea apropiado.
- Puede prepararse una preparación para un implante intraocular usando un polímero biodegradable tal como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, un copolímero de ácido glicólico de ácido láctico o hidroxipropilcelulosa y, si se precisa, un excipiente, un aglutinante, un estabilizante, un agente de ajuste del pH o similar puede seleccionarse de forma adecuada y usarse según sea apropiado.
- La dosis del presente compuesto puede seleccionarse de forma adecuada dependiendo de la forma de dosificación, síntomas, edad, peso corporal del paciente o similares. Por ejemplo, en el caso de administración oral, puede administrarse en una cantidad de 0,01 a 5000 mg, preferentemente de 0,1 a 2500 mg, particularmente preferentemente de 0,5 a 1000 mg al día en una única dosis o varias dosis divididas. En el caso de una inyección, puede administrarse en una cantidad de 0,00001 a 2000 mg, preferentemente de 0,0001 a 1500 mg, particularmente preferentemente de 0,001 a 500 mg al día en una única dosis o en varias dosis divididas. En el caso de un colirio, una preparación que contiene el presente compuesto a una concentración del 0,00001 al 10 % (p/v), preferentemente del 0,0001 al 5 % (p/v), particularmente preferentemente del 0,001 al 1 % (p/v) puede instilarse en un ojo una vez o varias veces al día. En el caso de un ungüento oftálmico, puede aplicarse una preparación que contiene el presente compuesto en una cantidad del 0,0001 a 2000 mg. En el caso de un inserto o una preparación para implante intraocular, puede insertarse o implantarse una preparación que contiene el presente compuesto en una cantidad de 0,0001 a 2000 mg.
- La presente invención también se refiere a la combinación de composiciones farmacéuticas separadas en forma de kit. El kit comprende un recipiente para contener las composiciones separadas tal como una botella dividida o un envase de aluminio dividido, sin embargo, las composiciones separadas también pueden estar contenidas dentro de un recipiente único, sin dividir. La forma de kit resulta particularmente ventajosa cuando los componentes separados se administran preferentemente en distintas formas de dosificación (por ejemplo, oral y parenteral), se administran en intervalos de dosificación distintos o cuando se desea la titulación de los componentes individuales de la combinación por el médico que los receta.
- Un ejemplo de tal kit es el denominado envase blíster. Los envases de blíster son bien conocidos en la industria de los envasados y se usan ampliamente para el envasado de formas de dosificación unitarias farmacéuticas (comprimidos, cápsulas y similares). Los envases de blíster consisten en una lámina de un material relativamente rígido cubierto con una lámina de un material preferentemente de plástico transparente. Durante el procedimiento de envasado, se forman rebajes en la lámina de plástico. Los rebajes tienen el tamaño y forma de los comprimidos o cápsulas que van a envasarse. A continuación, los comprimidos o cápsulas se colocan en los rebajes y la hoja de

material relativamente rígido se sella contra la lámina de plástico en la cara de la lámina que está opuesta a la dirección en la que se han formado los rebajes. Como resultado, los comprimidos o cápsulas se sellan en los rebajes entre la lámina de plástico y la hoja. Preferentemente, la resistencia de la hoja es tal que los comprimidos o cápsulas pueden retirarse del envase de blíster aplicando una presión sobre el rebaje mediante el cual se forma una abertura en la hoja en el lugar del rebaje. El comprimido o cápsula puede entonces retirarse a través de dicha abertura.

Puede proporcionarse un producto de kit, de jeringa precargada, que se precarga con medicamento deseado en un recipiente de jeringa.

Ejemplo

Puede prepararse un compuesto de fórmula (I) o fórmula (I') usando cualquier procedimiento conocido en la técnica (por ejemplo, referencia de patente 1, Patente JP n.º P4577534).

Entre los ejemplos de un modelo de enfermedad ocular acompañado con neovascularización se incluyen los siguientes estudios.

Estudios de evaluación de actividades inhibitorias frente a neovascularización

Estudio de formación de tubos HUVEC

En sistema de co-cultivo de fibroblastos humanos y células endoteliales de vena umbilical (HUVEC), se estudia el efecto del fármaco sobre la promoción de la formación de tubos de HUVEC añadiendo VEGF-A. Se añade un fármaco a evaluar al medio añadido con VEGF-A. Las células cultivadas se inmovilizan después de un determinado período de tiempo y las HUVEC teñidas con un anticuerpo anti-CD31 se someten a observación morfológica y, a continuación, se evalúa el área de tubos, la longitud total de red de tubos, el número de puntos de ramificación, el número de ramificaciones y similares.

Journal of Pharmacological Sciences, 129, 451-456 (2007).

Estudio de crecimiento de células endoteliales microvasculares de la retina humana (HRMEC)

El VEGF es un factor que promueve la neovascularización y se cree que es una de las causas de desarrollo o progresión de la degeneración macular senil (Prog. Retinal Eye Res., 22 (1), 1-29 (2003)). Por lo tanto, el efecto inhibitorio de los compuestos de la invención frente al crecimiento de células inducidas por VEGF se evalúa usando células endoteliales vasculares de la retina humana (HRMEC).

Las HRMEC se cultivan en placas de 96 pocillos a $2,0 \times 10^3$ células/pocillo y se cultivan en condiciones del 5 % de CO_2 / 95 % de aire durante 24 horas. A continuación, el medio de cultivo se cambia con medio CSC que contiene un 10 % de suero bovino fetal y el caldo de cultivo se cultiva durante 24 horas. El caldo de cultivo se cambia con un medio de vehículo o medio de estudio que contiene el compuesto de la invención a 0,1, 1,0, 10 o 100 microM. Después la preincubación durante 1 hora, el caldo de cultivo se ajusta para que esté a una concentración de 10 ng/ml añadiendo la solución de VEGF-A y se cultivó durante 24 horas. El caldo de cultivo sin añadir solución de VEGF-A también se trata del mismo modo. A continuación, se añade CCK-8 al caldo de cultivo después de cultivar durante 3 horas, se mide la absorbancia (OD492).

De acuerdo con la siguiente fórmula, se calcula la tasa de inhibición de crecimiento celular (%) de cada grupo tratado con el compuesto. El número de ejemplos de cada grupo es seis.

$$\text{Tasa de inhibición de crecimiento celular (\%)} = \frac{(B_x - B_N)}{(B_o - B_N)} \times 100$$

B_o : absorbancia celular de grupo tratado con vehículo
 B_x : absorbancia celular de grupos tratado con compuesto
 B_N : absorbancia celular de grupo no tratado

El resultado del Compuesto A se muestra en la Figura 1. Aunque la adición del Compuesto A solo no tiene efecto sobre el crecimiento de células HRMEC (en el lado izquierdo de la Figura 1), la adición de un compuesto de la invención inhibe el crecimiento de células HRMEC inducidas por VEGF-A en un modo dependiente de dosis (en el lado derecho de la Figura 1). El Compuesto A inhibe el crecimiento celular a niveles de control de 10 a 100 microM.

Estudio de migración de células endoteliales capilares de la retina humana (HRMEC) inducidas por VEGF

Se estudian los efectos del fármaco sobre la migración de células endoteliales capilares de la retina humana (HRMEC). Las HRMEC se cultivan en placas de 12 pocillos revestidos con colágeno a una densidad de 4×10^4 células/pocillos, y se cultivan a 37 °C al 5 % de CO_2 durante 48 horas. A continuación, después de haber cambiado el medio con el medio sin los factores de crecimiento, las células se incuban durante 24 horas. A continuación, las células presentes en la línea central del pocillo se retiran usando una punta de 1 ml y el medio se cambia lavando el pocillo con PBS (solución reguladora de fosfato). Inmediatamente tras esto, se registra la migración usando una cámara CCD (pre-migración). El VEGF-A y un compuesto de la presente invención se añaden al pocillo para

conseguir la concentración diana y el pocillo se incuba durante 24 horas. Tras la migración, cada pocillo se registra de un modo similar y el número de células migradas al lugar en el que se retiran las células se mide comparándolo con esa migración anterior.

- 5 Mediante la adición de VEGF-A, el número de células migradas de HRMEC aumentó en comparación con el del grupo de control. Se observa un efecto inhibitorio significativo en la migración de HRMEC inducidas por VEGF mediante la adición del compuesto de la presente invención.

Modelo de neovascularización coroidea (CNV) inducida por láser

10 Se usa un ratón C57BL/6J macho. Se instila solución oftálmica de Mydrin P (marca comercial registrada, Santen Pharmaceutical) en el ojo derecho del ratón para causar midriasis. Los animales se anestesian y se realiza irradiación sobre alrededor de la circunferencia del disco óptico con ocho espacios iguales usando un aparato de fotocoagulación.

15 Tras la fotocoagulación, se lleva a cabo la administración intravítrea de fármacos al ojo derecho (administrando 2 micro l de una solución de 60 microM y 600 microM usando un disolvente obtenido mediante la mezcla de 0,1N de NaOH con pH 7,2 de PBS que contenía $1,5 \times 10^{-3}$ N de HCl en la relación de 16 : 84) o administración oral / administración subcutánea / administración intraperitoneal. Tras la instilación de Cravit (marca comercial registrada, Daiichi Sankyo) solución oftálmica al 0,5 % en el ojo derecho, la fotografía del fondo ocular se realiza rápidamente usando un retinógrafo ocular. El día 7 y el día 14 después de la radiación por láser, Fluorescite diluido 10 veces (marca comercial registrada, Nippon Alcon) de inyección intravenosa se inyecta en la vena caudal del animal anestesiado y se realiza rápidamente la angiografía del fondo de la fluoresceína ocular usando un retinógrafo.

20 El día 15 tras la radiación láser, se inyectó dextrano conjugado con fluoresceína (dextrano-FITC) en la vena caudal a un animal anestesiado. Después de asegurar el globo ocular extirpado de los animales, se preparó un espécimen de montaje plano coroides en el microscopio. Los especímenes de montajes planos coroides se disparan usando un microscopio confocal de barrido a láser y el área de CNV de la imagen se calcula usando el software de análisis OLYMPUS FLUOVIEW FV1000.

- 25 El resultado del Compuesto A se muestra en la Figura 2. El área de CNV se ve reducido significativamente en comparación con el grupo no tratado.

La imagen patológica del Compuesto A se muestra en la Figura 3. El área de CNV se ve reducido significativamente en comparación con el grupo no tratado.

Modelo de neovascularización de la retina inducida por hiperoxia (retinopatía inducida por oxígeno: OIR)

30 Los experimentos se llevan a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en Journal of Pharmacological Sciences, 129, 451-456 (2007) e Invest Ophthalmol Vis Sci.1994; 35; pág.101-111. Se usan ratones C57BL/6J. El modelo de ratón inducido por hiperoxia se lleva a cabo de acuerdo con el procedimiento de Smith (Smith LE y col., Invest Ophthalmol Vis Sci.1994; 35; pág.101-111). Un ratón recién nacido se aloja junto con el ratón progenitor con oxígeno elevado (75 % de O₂) en la jaula, que se controla mediante el dispositivo de control de oxígeno desde el día 7 postnatal al día 12 postnatal. El día 12 postnatal, el ratón recién nacido se devuelve a condiciones de presión atmosférica normales (21 % de O₂) y se lleva a cabo la administración intravítrea de fármacos al ojo derecho (administrando 2 micro l de una solución de 60 microM y 600 microM usando un disolvente obtenido mediante la mezcla de 0,1 N de NaOH con pH 7,2 de PBS que contenía $1,5 \times 10^{-3}$ N de HCl en la relación de 16 : 84) o administración oral / administración subcutánea / administración intraperitoneal y se aloja hasta el día 17 postnatal.

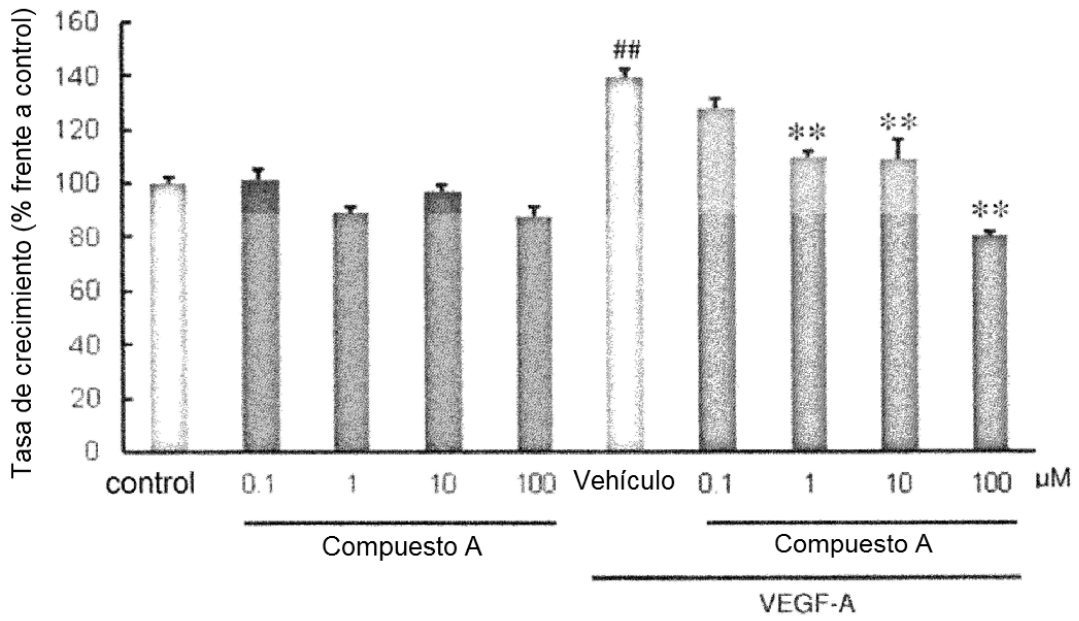
40 Los ratones se anestesian en el período de evaluación y se administra dextrano-FITC desde el ventrículo izquierdo. Después de asegurar el globo ocular extirpado de los animales, se preparó un espécimen de montaje plano coroides en el microscopio. Los especímenes de montaje planos coroides se disparan usando un microscopio confocal de barrido a láser y el área de CNV de la imagen se calcula usando el software de análisis OLYMPUS FLUOVIEW FV1000.

- 45 El área de CNV se ve reducido significativamente administrando un compuesto de la presente invención en comparación con el grupo no tratado.

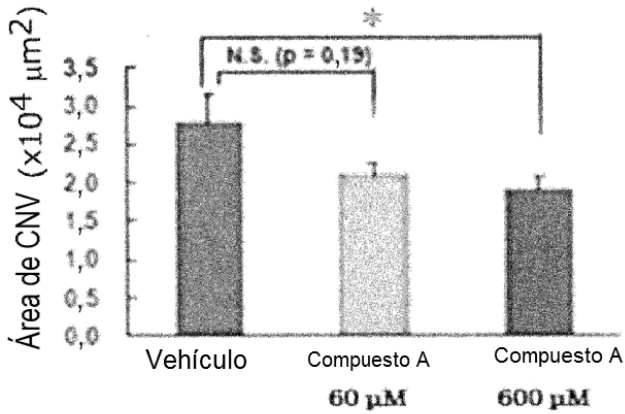
REIVINDICACIONES

- 5 1. Ácido (S)-6-cloro-7-(1,1-dimetiletil)-2-trifluorometil-2H-1-benzopiran-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad ocular en un animal que incluye el ser humano, en donde la enfermedad ocular es degeneración retinocoroidea y/o enfermedad ocular acompañada de neovascularización.
- 10 2. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la enfermedad ocular acompañada de neovascularización es uno o más seleccionados de entre el grupo que consiste en degeneración macular senil, retinopatía del prematuro, vasculopatía coroidea polipoidea, retinopatía proliferativa isquémica, retinosis pigmentaria, distrofia de conos y bastones, vitreoretinopatía proliferativa, oclusión de arteria retinal, oclusión de vena retinal, queratitis, conjuntivitis, uveítis, enfermedad de Leber, desprendimiento de retina, desprendimiento de epitelio pigmentario de la retina, neovascularización coroidea y neovascularización retinocoroidea.
- 15 3. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la enfermedad ocular acompañada de neovascularización es neovascularización retinocoroidea.
- 15 4. Una composición farmacéutica para su uso en la prevención o el tratamiento de una enfermedad ocular, en donde la composición farmacéutica contiene un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo y en donde la enfermedad ocular es degeneración retinocoroidea y/o enfermedad ocular acompañada de neovascularización.
- 20 5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la enfermedad ocular acompañada de neovascularización es uno o más seleccionados de entre el grupo que consiste en degeneración macular senil, retinopatía del prematuro, vasculopatía coroidea polipoidea, retinopatía proliferativa isquémica, retinosis pigmentaria, distrofia de conos y bastones, vitreoretinopatía proliferativa, oclusión de arteria retinal, oclusión de vena retinal, queratitis, conjuntivitis, uveítis, enfermedad de Leber, desprendimiento de retina, desprendimiento de epitelio pigmentario de la retina, neovascularización coroidea y neovascularización retinocoroidea.
- 25 6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en donde la enfermedad ocular acompañada de neovascularización es neovascularización retinocoroidea.

{Figura 1}



{Figura 2}



{Figura 3}

