



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 321 993**

51 Int. Cl.:
A61K 31/557 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **98960386 .5**
96 Fecha de presentación : **19.11.1998**
97 Número de publicación de la solicitud: **1059925**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.12.2000**

54 Título: **Agonistas del receptor EP₂ como agentes neuroprotectores del ojo.**

30 Prioridad: **21.11.1997 US 975314**

73 Titular/es: **ALLERGAN, Inc.**
2525 Dupont Drive
Irvine, California 92612, US

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
15.06.2009

72 Inventor/es: **Woodward, David, F.**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
15.06.2009

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 321 993 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

Agonistas del receptor EP₂ como agentes neuroprotectores del ojo.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al uso de agonistas del receptor EP₂ para proporcionar un efecto neuroprotector al ojo de un mamífero.

10 **Antecedentes de la invención**

Los agentes hipotensivos oculares son útiles en el tratamiento de varias afecciones hipertensivas oculares diversas, tales como episodios hipertensivos oculares después de trabeculectomía por cirugía y por láser, glaucoma, y como auxiliares prequirúrgicos.

15 El glaucoma es una enfermedad del ojo caracterizada por presión intraocular aumentada. En base a su etiología, el glaucoma se ha clasificado como primario o secundario. Por ejemplo, el glaucoma primario en adultos (glaucoma congénito) puede ser de ángulo abierto o de ángulo cerrado agudo o crónico. El glaucoma secundario es el resultado de enfermedades oculares pre-existentes tales como uveítis, tumor intraocular o una catarata extendida.

20 Las causas subyacentes de glaucoma primario aún no son conocidas. La tensión intraocular aumentada se debe a la obstrucción del flujo de humor acuoso. En glaucoma de ángulo abierto crónico, la cámara anterior y sus estructuras anatómicas parecen normales, pero el drenaje del humor acuoso está impedido. En glaucoma de ángulo cerrado agudo o crónico, la cámara anterior es poco profunda, el ángulo de filtración está estrechado, y el iris puede obstruir la malla trabecular en la entrada del canal de Schlemm. La dilatación de la pupila puede empujar la raíz del iris hacia delante
25 contra el ángulo, y puede producir el bloqueo de la pupila y por tanto precipitar un ataque agudo. Los ojos con ángulos estrechos de la cámara anterior están predispuestos a ataques de glaucoma de ángulo cerrado agudo de diversos grados de gravedad.

30 El glaucoma secundario está causado por cualquier interferencia con el flujo del humor acuoso desde la cámara posterior en la cámara anterior y posteriormente, en el canal de Schlemm. Una enfermedad inflamatoria del segmento anterior puede evitar el escape acuoso causando una sinequia posterior completa en iris bombé y puede taponar el canal de drenaje con exudados. Otras causas comunes son tumores intraoculares, cataratas extendidas, oclusión de la vena retiniana central, traumatismo en el ojo, procedimientos operatorios y hemorragia intraocular.

35 Considerando todos los tipos juntos, el glaucoma sucede en aproximadamente el 2% de todas las personas con edad de 40 y puede ser asintomático durante años antes de progresar en una rápida pérdida de visión. En casos en los que no está indicada la cirugía, los antagonistas del β -adrenorreceptor tópicos tradicionalmente han sido los fármacos de elección para tratar el glaucoma.

40 Se sabe desde hace tiempo que una de las secuelas del glaucoma es el daño de la cabeza del nervio óptico. Este daño, conocido como "excavación" (cupping), provoca depresiones en áreas de la fibra nerviosa del disco óptico. La pérdida de vista a partir de esta excavación es progresiva y puede conducir a ceguera si la afección no se trata de forma eficaz.

45 Desafortunadamente la disminución de la presión intraocular por administración de fármacos o por cirugía para facilitar el flujo del humor acuoso no siempre es eficaz para obviar el daño a lo nervios en afecciones glaucomatosas. Esta aparente contradicción la aborda Cioffi y Van Buskirk [*Surv. of Ophthalmol.*, 38, Supl. pág. S107-16, análisis S116-17, Mayo 1994] en el artículo, "Microvasculature of the Anterior Optic Nerve". El resumen indica:

50 La definición tradicional de glaucoma como un trastorno de presión intraocular aumentada (IOP) simplifica demasiado la situación clínica. Algunos pacientes con glaucoma nunca tienen IOP mayor de la normal y otros continúan desarrollando daño del nervio óptico a pesar de una disminución máxima de la IOP. Otro factor posible en la etiología del glaucoma puede ser la regulación de la microvasculatura regional del nervio óptico anterior. Una razón para creer que los factores microvasculares son importantes es que
55 muchas enfermedades microvasculares están asociadas con neuropatía óptica glaucomatosa.

60 Posteriormente a Cioffi, y col., Matusi publicó un artículo sobre los "Ophthalmologic aspects of Systemic Vasculitis" [*Nippon Rinsho*. 52 (8), pág. 2158-63, Agosto 1994] y añadía apoyo adicional a la aserción de que muchas enfermedades microvasculares están asociadas con neuropatía óptica glaucomatosa. El sumario indica:

65 Se revisaron los hallazgos oculares de vasculitis sistémica, tales como poliarteritis nodosa, angitis de células gigantes y síndrome de aortitis. El lupus sistémico eritematoso no está clasificado como vasculitis sistémica, sin embargo sus hallazgos oculares son microangiopáticos. Por lo tanto, se incluyó la revisión de sus hallazgos oculares en este artículo. El hallazgo de fondo más común en estas enfermedades es neuropatía óptica isquémica u oclusiones vasculares retinianas. Por lo tanto se analizaron varios puntos en el diagnóstico o patogénesis de neuropatía óptica y vaso-oclusión retiniana y coroidea. La isquemia coroidea

ha resultado que se puede diagnosticar clínicamente, ya que se aplicaba angiografía con fluoresceína en estas lesiones. Cuando se ocluyen las arterias coroideas, se daña el epitelio pigmentario retiniano subyacente. Esto causa la alteración de la función de barrera del epitelio y permite que pase fluido desde las vasculaturas coroideas a los espacios retinianos subsensoriales. Esto es una patogénesis de desprendimiento grave de la retina. La oclusión arterial retiniana formaba una retina no perfundida. Dicha retina hipóxica liberaba factores de angiogénesis que estimulan la neovascularización de la retina y el iris y la neovascularización del iris puede causar glaucoma neovascular.

B. Schwartz, en "Circulatory Defects of the Optic Disk and Retina in Ocular Hypertension and High Pressure Open-Angle Glaucoma". [*Surv. Ophthalmol.*, 38, Supl. pág. S23-24, Mayo 1994] analiza la medición de los efectos progresivos en el nervio óptico y la retina asociados con la progresión del glaucoma. Indica:

Los defectos de la fluoresceína están significativamente correlacionados con pérdida de campo visual y pérdida del estrato de fibra nerviosa retiniana. El segundo efecto circulatorio es una disminución del flujo de fluoresceína en los vasos retinianos, especialmente las venas retinianas, de modo que cuanto mayor sea la edad, presión sanguínea diastólica, presión ocular y pérdida de campo visual, menor será el flujo. Los defectos tanto del disco óptico como de la circulación retiniana suceden en ojos hipertensivos oculares no tratados. Estas observaciones indican que los defectos circulatorios en el disco óptico, y la retina suceden en hipertensión ocular y glaucoma de ángulo abierto y aumenta con la progresión de la enfermedad.

Por tanto, es evidente que existe la necesidad no satisfecha de agentes que tengan efectos neuroprotectores en el ojo que puedan detener o retardar el daño progresivo que suceden en los nervios como resultado de glaucoma u otras afecciones oculares.

Anteriormente las prostaglandinas estaban consideradas como potentes hipertensivos oculares; sin embargo, las evidencias acumuladas en las últimas dos décadas muestran que algunas prostaglandinas son agentes hipotensivos oculares muy eficaces y son muy adecuadas para el tratamiento médico a largo plazo de glaucoma. (Véase, por ejemplo, Starr, M.S. *Exp. Eye Res.* 1971, 11, pág. 170-177; Bito, L. Z. *Biological Protection with Prostaglandins* Cohen, M. M., ed., Boca Raton, Fla, CRC Press Inc., 1985, pág. 231-252; y Bito, L. Z., *Applied Pharmacology in the Medical Treatment of Glaucomas* Drance, S. M. y Neufeld, A. H. eds., Nueva York, Grune & Stratton, 1984, pág. 477-505). Dichas prostaglandinas incluyen $\text{PGF}_{2\alpha}$, $\text{PGF}_{1\alpha}$, PGE_2 , y ciertos ésteres liposolubles, tales como ésteres de alquilo C_1 a C_5 , por ejemplo 1-isopropil éster, de dichos compuestos.

En la Patente de Estados Unidos N° 4.599.353 se informó de que ciertas prostaglandinas, en particular PGE_2 y $\text{PGF}_{2\alpha}$ y los ésteres de alquilo C_1 a C_5 del último compuesto, tienen actividad hipotensiva ocular y se recomendaban para su uso en el tratamiento de glaucoma.

Aunque el mecanismo preciso aún no es conocido, resultados experimentales recientes indican que la reducción en la presión intraocular inducida por prostaglandinas es el resultado del flujo uveoescleral aumentado [Nilsson y col., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 28 (supl. 284 (1987))].

El isopropil éster de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ha demostrado tener potencia hipotensiva significativamente mayor que el compuesto precursor, que se atribuyó a su penetración más eficaz a través de la córnea. En 1987 este compuesto se describió como "el agente hipotensivo ocular más potente jamás presentado". [Véase, por ejemplo, Bito, L. Z., *Arch. Ophthalmol.* 105, 1036 (1987), y Siebold y col., *Prodrug* 5, 3 (1989)].

Aunque las prostaglandinas parece que están desprovistas de efectos secundarios intraoculares significativos, se ha asociado sistemáticamente la hiperemia superficial ocular (conjuntival) y la sensación de cuerpo extraños con el uso ocular tópico de dichos compuestos, en particular $\text{PGF}_{2\alpha}$ y sus profármacos, por ejemplo su 1-isopropil éster, en seres humanos. El potencial clínico de las prostaglandinas en el tratamiento de afecciones asociadas con presión ocular aumentada, por ejemplo glaucoma, está muy limitado por estos efectos secundarios.

Ciertas fenil y fenoxi mono, tri y tetra nor prostaglandinas y sus 1-ésteres se describen en la Solicitud de Patente Europea 0.364.417 como útiles en el tratamiento de glaucoma o hipertensión ocular.

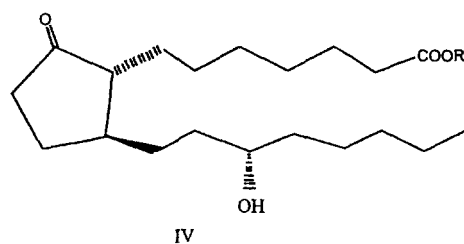
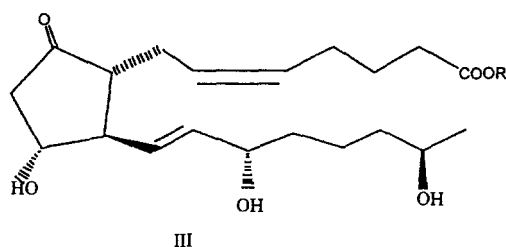
En una serie de solicitudes de patente de Estados Unidos en trámite junto con la presente asignada a Allergan, Inc. se describen ésteres de prostaglandina con actividad hipotensiva ocular aumentada no acompañados por efectos secundarios o acompañados por efectos secundarios sustancialmente reducidos. El documento en trámite junto con la presente USSN 386.835 (presentado el 27 de julio de 1989), se refiere a ciertas 11-acil-prostaglandinas, tales como 11-pivaloil, 11-acetil, 11-isobutiril, 11-valeril, y 11-isovaleril $\text{PGF}_{2\alpha}$. Se describen 15-acil prostaglandinas que reducen la presión intraocular en la solicitud en trámite junto con la presente USSN 357.394 (presentada el 25 de mayo de 1989). Asimismo, se sabe que 11,15- 9,15- y 9,11-diésteres de prostaglandinas, por ejemplo 11,15-dipivaloil $\text{PGF}_{2\alpha}$, tienen actividad hipotensiva ocular. Véanse las solicitudes de patente en trámite junto con la presente USSN N° 385.645 presentada el 27 de julio de 1990, ahora la Patente de Estados Unidos N° 4.494.274; 584.370 que es una continuación del documento USSN N° 386.312, y 585.284, ahora la Patente de Estados Unidos N° 5.034.413 que es una continuación del documento USSN 386.834, donde las solicitudes precursoras se presentaron el 27 de julio de 1989.

Finalmente, se describen ciertos agonistas del receptor EP₂ en Nials y col., *Cardiovascular Drug Reviews*. Vol. 11, N° 2, pág. 165-179, Coleman y col., *Comprehensive Medicinal Chemistry*. Vol. 3, pág. 643-714, 1990 y Woodward y col., *Prostaglandins*, pág. 371-383, 1993.

Sumario de la invención

Los inventores han descubierto que los agonistas del receptor EP₂ son potentes agentes neuroprotectores. Los inventores han descubierto adicionalmente que el ácido (±) trans-2-[4(1-hidroxihexil)fenil]-5-oxociclopentanoheptanoico, y ciertos agonistas del receptor EP₂ diferentes, descritos a continuación, y ésteres, y derivados insaturados de los mismos, son especialmente útiles para proporcionar un efecto neuroprotector al ojo de un mamífero, por ejemplo un ser humano.

La presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula III o IV para la preparación de un medicamento útil para proteger las células de la retina o el nervio óptico en un mamífero que padece una acción nociva o en riesgo de experimentar una acción nociva sobre dichas células nerviosas, para inhibir o prevenir la lesión o muerte de las células nerviosas



en las que la unión con línea discontinua al anillo ciclopentano o la cadena omega indica la configuración α y la unión con línea continua al anillo ciclopentano o la cadena omega indica la configuración β , R es hidrógeno o un grupo hidrocarburo acíclico saturado o insaturado que tiene de 1 a 20 átomos de carbono, o $-(CH_2)_mR_1$ en el que m es 0-10, y R₁ es un anillo alifático que tiene de 3 a 7 átomos de carbono, o un anillo arilo o heteroarilo que tiene de 4 a 10 átomos de carbono y en el que el heteroátomo se selecciona entre el grupo constituido por N, O y S, en el que la acción nociva es retinopatía diabética, isquemia no glaucomatosa o en el que la acción nociva es de naturaleza microangiopática y un síntoma de la enfermedad elegido entre el grupo constituido por poliarteritis nodosa, angitis de células gigantes, síndrome de aortitis y lupus sistémico eritematoso.

Breve descripción de la figura

La Figura muestra una comparación del efecto neuroprotector de los agonistas de EP₂ con prostaglandinas que no tienen actividad agonista de EP₂ para prevenir el daño neuronal.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al uso de agentes terapéuticos representados por compuestos que tienen la fórmula III o IV, como se define en las reivindicaciones adjuntas.

En todas las fórmulas anteriores, así como en las proporcionadas a continuación en este documento, las líneas rectas representan enlaces. Cuando no hay símbolo para los átomos entre los enlaces, tiene que deducirse el radical apropiado que contiene carbono.

Para el propósito de esta invención, salvo que se limite adicionalmente, el término “alquilo” se refiere a grupos alquilo que tiene de uno a diez átomos de carbono e incluye radicales “alquilo inferior” que tienen de uno a cinco átomos de carbono, el término “cicloalquilo” se refiere a grupos cicloalquilo que tienen de tres a siete átomos de carbono, el término “arilo” se refiere a grupos arilo que tienen de cuatro a diez átomos de carbono. El término “grupo hidrocarburo acíclico saturado o insaturado” se usa para referirse a grupos hidrocarburo saturados o insaturados, de cadena lineal o ramificada que tienen de uno a seis, preferiblemente de uno a aproximadamente cuatro átomos de carbono. Dichos grupos incluyen grupos alquilo, alquenilo y alquinilo de longitudes apropiadas, y preferiblemente son alquilo, por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, o hexilo, o una forma isomérica de los mismos.

La definición de R puede incluir un componente cíclico, $-(CH_2)_mR_1$, en el que m es 0-10, R_2 es un anillo alifático de 3 a 7 átomos de carbono, o un anillo aromático o heteroaromático. El “anillo alifático” puede estar saturado o insaturado, y preferiblemente es un anillo saturado que tiene 3-7 átomos de carbono, inclusive. Como anillo aromático, R_1 es preferiblemente fenilo, y los anillos heteroaromáticos tienen oxígeno, nitrógeno o azufre como heteroátomo, es decir, R_1 puede ser tienilo, furanilo, piridilo, etc. Preferiblemente m es 0-4.

Los representantes preferidos de los compuestos dentro del alcance de la presente invención son 19(R)-OH PGE₂ y AY23626.

Una sal farmacéuticamente aceptable es cualquier sal que retiene la actividad del compuesto precursor y no confiere ningún efecto nocivo o indeseable al sujeto al que se administra y en el contexto en que se administra. Dichas sales son aquellas formadas con cationes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, metales alcalinos, metales alcalino-térreos, etc.

Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse combinando una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de acuerdo con la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como ingrediente activo, con excipientes farmacéuticamente aceptables oftálmicamente convencionales, y preparando formas de dosificación unitaria adecuadas para uso ocular tópico. La cantidad terapéuticamente eficaz típicamente está entre aproximadamente el 0,0001 y aproximadamente el 5% (p/v), preferiblemente de aproximadamente el 0,001 a aproximadamente el 1,0% (p/v) en formulaciones líquidas.

Para aplicación oftálmica, se preparan preferiblemente soluciones usando una solución salina fisiológica como vehículo principal. El pH de dichas soluciones oftálmicas debe mantenerse preferiblemente entre 4,5 y 8,0 con un sistema tamponante apropiado, prefiriéndose un pH neutro, aunque no es esencial. Las formulaciones también pueden contener conservantes, estabilizadores y tensioactivos convencionales, farmacéuticamente aceptables.

Los tensioactivos preferidos que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercúrico y nitrato fenilmercúrico. Un tensioactivo preferido es, por ejemplo, Tween 80. Asimismo, pueden usarse diversos vehículos preferidos en las preparaciones oftálmicas de la presente invención. Estos vehículos incluyen, aunque sin limitación, alcohol polivinílico, povidona, hidroxipropil metil celulosa, poloxámeros, carboximetil celulosa, hidroxietil celulosa, ciclo-dextrina y agua purificada.

Pueden añadirse agentes de ajuste de la tonicidad según sea necesario o conveniente. Incluyen, aunque sin limitación, sales, particularmente cloruro sódico, cloruro potásico, manitol y glicerina, o cualquier otro agente de ajuste de la tonicidad oftálmicamente aceptable adecuado.

Pueden usarse diversos tampones y medios para ajustar el pH siempre que la preparación resultante sea oftálmicamente aceptable. Por consiguiente, los tampones incluyen tampones acetato, tampones citrato, tampones fosfato y tampones borato. Pueden usarse ácidos o bases para ajustar el pH de estas formulaciones según sea necesario.

De la misma manera, un antioxidante oftálmicamente aceptable para su uso en la presente invención incluye, aunque sin limitación, metabisulfito sódico, tiosulfato sódico, acetilcisteína, hidroxianisol butilado e hidroxitolueno butilado.

Otros componentes excipientes que pueden incluirse en las preparaciones oftálmicas son agentes quelantes. El agente quelante preferido es edentato disódico, aunque también pueden usarse otros agentes quelantes en lugar de o junto con el mismo.

ES 2 321 993 T3

Los ingredientes se usan habitualmente en las siguientes cantidades:

Ingrediente	Cantidad (% p/v)
ingrediente activo	aproximadamente 0,001-5
conservante	0-0,10
vehículo	0-40
agente de ajuste de la tonicidad	0-10
tampón	0,01-10
agente de ajuste del pH	c.s. pH 4,5-8,0
antioxidante	según sea necesario
tensioactivo	según sea necesario
agua purificada	según sea necesario para completar el 100%

La dosis real de los compuestos activos de la presente invención depende del compuesto específico, y de la afección a tratar; la selección de la dosis apropiada pertenece al conocimiento de los especialistas en la técnica.

Las formulaciones oftálmicas para su uso en el procedimiento de la presente invención se envasan convenientemente en formas adecuadas para su aplicación medida, tal como en recipientes equipados con un cuentagotas, para facilitar su aplicación al ojo. Los recipientes adecuados para la aplicación gota a gota están fabricados habitualmente de material plástico, no tóxico inerte, adecuado, y generalmente contienen entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 15 ml de solución. Un envase puede contener una o más dosis unitarias.

A menudo se formulan soluciones especialmente libres de conservantes en recipientes que no se pueden volver a precintar que contienen hasta aproximadamente diez, preferiblemente hasta aproximadamente cinco dosis unitarias, donde una dosis unitaria típica es de una a aproximadamente 8 gotas, preferiblemente de una a aproximadamente 3 gotas. El volumen de una gota habitualmente es de aproximadamente 20-35 μ l.

La invención se ilustra adicionalmente por los siguientes Ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1

Ácido ($\pm$) trans-2-[4(1-hidroxihexil)fenil]-5-oxociclo-pentanoheptanoico y ésteres de alquilo inferior del mismo

El compuesto ácido anterior es bien conocido y puede adquirirse o sintetizarse por procedimientos conocidos en la técnica. Los ésteres de alquilo inferior de este compuesto pueden fabricarse por los procedimientos de esterificación descritos en las diversas solicitudes de patente descritas en los Antecedentes de la Invención.

Ejemplo 2

(Ejemplo de referencia)

Procedimiento para Medir un Efecto Neuroprotector

Se realizó la disección y disociación de los cultivos celulares de neuronas del hipocampo. En resumen, se retiraron neocórtices cerebrales completas de ratas fetales, con una edad de gestación de 15-19 días y se mantuvieron en solución salina equilibrada de Hank libre de calcio y de magnesio. Se retiraron los hipocampos bajo un microscopio de disección y se retiraron las meninges. Cuando se retiraron todos los hipocampos, los tejidos se incubaron en solución de tripsina al 0,05% durante 30 minutos a 37°C. Al final de un periodo de 340 minutos, la solución de tripsina se reemplazó con medio de siembra (medio esencial mínimo suplementado con suero de caballo Hyclone al 2%, suero de ternera fetal al 1%, glucosa 25 mM, glutamina al 1% y penicilina/estreptomicina al 1% y suplemento de N_2). Después los tejidos se trituraron con una pipeta Pasteur 10 veces y después de nuevo con una pipeta cuya punta se había pulido al fuego a aproximadamente la mitad del diámetro normal. Las células neuronales disociadas después se sembraron en placas de 24 pocillos de 15 mm, revestidas de poli D-lisina (2×10^5 células/pocillo) en medio de siembra.

Los cultivos celulares se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada, que contenía CO_2 al 5%. Después de 1-2 días, el nivel de suero de caballo en el medio de siembra se aumentó hasta el 8%. Después de 4-7 días, la división celular no neuronal se detuvo por exposición durante 24 horas a arabinósido de citosina 10^{-6} M (ARA-C), y las células después se pusieron en medio de cultivo con suero de caballo al 4%, suero de ternera fetal al 1%, glucosa

ES 2 321 993 T3

25 mM, glutamina al 1% y penicilina/estreptomicina al 1% y suplemento de N₂. El reemplazo posterior del medio se realizó en días alternos hasta que maduraron las células neuronales (15-20 días). Se seleccionaron solamente los cultivos celulares maduros para el estudio.

5 La exposición de los aminoácidos excitadores se realizó en medio esencial mínimo (MEM). Se tuvo extremo cuidado de eliminar el medio de cultivo de los cultivos antes de la adición del aminoácido excitador ya que las neuronas son muy sensibles a las alteraciones. Se expusieron cultivos celulares maduros a glutamato, ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico (AMPA), N-metil-D-aspartato (NMDA), o ácido kaínico.

10 Se registró la citotoxicidad o lesión celular por examen en microscopio óptico con azul de tripano. En la mayoría de los experimentos, la lesión celular neuronal global se cuantificó por la cantidad de lactato deshidrogenasa (LDH) liberada por las células dañadas en el medio 24 horas después de la exposición al fármaco.

15 La LDH se midió a temperatura ambiente usando el kit de ensayo de citotoxicidad no radiactivo Promega. Se midió la absorbancia de la mezcla de reacción a 490 nm.

La Figura muestra ejemplos de liberación de LDH después de la exposición de diferentes exitotoxinas y sus antagonistas.

20 Como se muestra en la Figura, se muestran los efectos del agonista de EP₂ AH 13205 sobre la neurotoxicidad inducida por NMDA en el panel superior derecho. Se aprecia que PGF_{2 α} y PGF_{2 α} 1-OH son inactivos, indicando de este modo que es un efecto mediado por el receptor EP₂ específico.

25 Ejemplo 3

Determinación de Actividad del Receptor EP₂

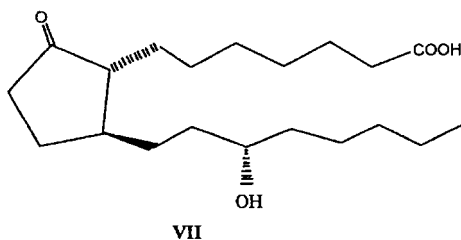
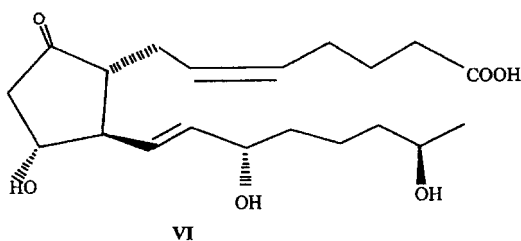
30 La actividad del receptor EP₂ puede medirse de acuerdo con el procedimiento descrito en Woodward y col., *Prostaglandins*, pág. 371-383, 1993, que se incorpora por la presente por referencia en su totalidad.

Ejemplo 4

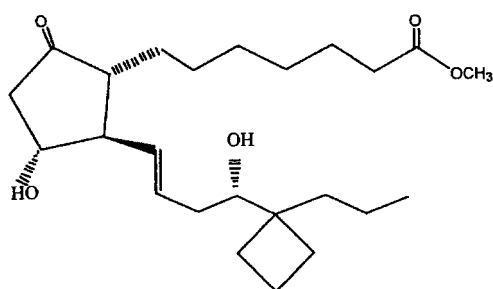
35 *Procedimiento para Medir un Efecto Neuroprotector*

Se repite el experimento del Ejemplo 2 con otros agonistas de EP₂, es decir 19(R)-OH PGE₂, AY 23626 y 9-ceto-11 α ,15 α -dihidroxi-16,16-trimetilenoprost-13-trans-enoato de metilo (butaprost) y los resultados son esencialmente como se muestra en la Figura para AH 13205.

40 19(R)-OH PGE₂, AY. 23626 y butaprost* tienen las siguientes estructuras, respectivamente.



65 *: indica compuesto de referencia



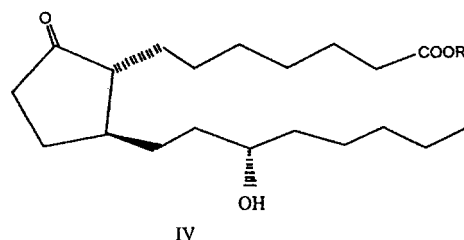
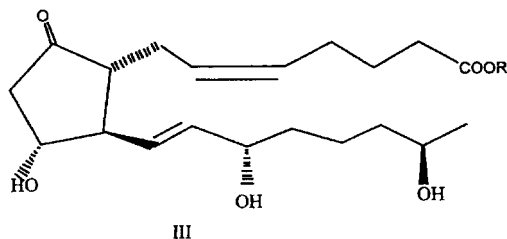
VIII

15 Sin embargo, como con ácido ($\pm$) trans-2-[-4(1-hidroxihexil)fenil]-5-oxociclopentanoheptanoico, el correspondiente 1-éster también es útil en el procedimiento de la presente invención.

20 La descripción anterior detalla procedimientos y composiciones específicos que pueden emplearse para poner práctica la presente invención, y representa el mejor modo contemplado.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula III o IV para la preparación de un medicamento útil para proteger las células de la retina o el nervio óptico en un mamífero que padece una acción nociva o en riesgo de experimentar una acción nociva sobre dichas células nerviosas, para inhibir o prevenir la lesión o muerte de las células nerviosas



en las que la unión con línea discontinua al anillo ciclopentano o la cadena omega indica la configuración α y la unión con línea continua al anillo ciclopentano o la cadena omega indica la configuración β , R es hidrógeno o un grupo hidrocarburo acíclico saturado o insaturado que tiene de 1 a 20 átomos de carbono, o $-(CH_2)_mR_1$ en el que m es 0-10, y R_1 es un anillo alifático que tiene de 3 a 7 átomos de carbono, o un anillo arilo o heteroarilo que tiene de 4 a 10 átomos de carbono y en el que el heteroátomo se selecciona entre el grupo constituido por N, O y S, en el que la acción nociva es retinopatía diabética, isquemia no glaucomatosa o en el que la acción nociva es de naturaleza microangiopática y un síntoma de la enfermedad elegido entre el grupo constituido por poliarteritis nodosa, angitis de células gigantes, síndrome de aortitis y lupus sistémico eritematoso.

