

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 476**

51 Int. Cl.:
A61K 31/216 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05076901 .7**
96 Fecha de presentación: **02.06.2000**
97 Número de publicación de la solicitud: **1614418**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.01.2006**

54 Título: **USO DE DERIVADOS DEL ÁCIDO (-) (3-TRIHALOMETILFENOXI) (4-HALOFENIL)-ACÉTICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA HIPERURICEMIA.**

30 Prioridad:
04.06.1999 US 325997

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.01.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.01.2012

73 Titular/es:
METABOLEX, INC.
3876 BAY CENTER PLACE
HAYWARD, CA 94545, US y
DIATEX, INC.

72 Inventor/es:
Luskey, Kenneth L. y
Luo, Jian

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 371 476 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

Uso de derivados del ácido (-) (3-trihalometilfenoxi) (4-halofenil)-acético para el tratamiento de la hiperuricemia

5 ÁMBITO DE LA PRESENTE INVENCION

La presente invención se refiere al empleo de derivados del ácido (-) (3-trihalometilfenoxi) (4-halofenil)-acético y a composiciones para tratar la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2, la hiperlipidemia y la hiperuricemia.

10 ANTECEDENTES DE LA PRESENTE INVENCION

Diabetes mellitus, llamada comúnmente diabetes, se refiere a un proceso patológico derivado de múltiples factores causantes que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en plasma, conocidos como hiperglucemia. Véase p.ej. LeRoith, D. y otros (eds.), DIABETES MELLITUS (Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, PA U.S.A. 1996), y todas las referencias ahí citadas. Según la Asociación americana de diabetes se calcula que la diabetes mellitus afecta a un 6% de la población mundial, aproximadamente. La hiperglucemia incontrolada está relacionada con una mortalidad superior y prematura, debido a un mayor riesgo de enfermedades micro y macrovasculares, incluyendo nefropatía, neuropatía, retinopatía, hipertensión, trastornos cerebrovasculares y cardiocoronarios. Por consiguiente el control homeostático de la glucosa es un método de importancia decisiva para el tratamiento de la diabetes.

Hay dos formas principales de diabetes: diabetes de tipo 1 (antes conocida como diabetes dependiente de insulina o DMDI) y diabetes de tipo 2 (antes conocida como diabetes no dependiente de insulina o DMNDI).

La diabetes de tipo 1 es el resultado de una carencia absoluta de insulina, la hormona que regula la utilización de la glucosa. La carencia de insulina se caracteriza usualmente por la destrucción de células β dentro de los islotes de Langerhans en el páncreas, lo cual suele conducir a la carencia absoluta de insulina. La diabetes de tipo 1 tiene dos formas: diabetes mellitus inmunológica mediadora, debida a una destrucción autoinmune de células β del páncreas de mediación celular, y diabetes mellitus idiopática, que se refiere a formas de la enfermedad sin etiología conocida.

La diabetes de tipo 2 es una enfermedad caracterizada por la resistencia a la insulina, acompañada de una carencia de insulina más relativa que absoluta. La diabetes de tipo 2 puede variar entre preponderancia de la resistencia a la insulina con relativa carencia de insulina y predominio de la carencia de insulina con cierta resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina es la menor capacidad de la misma para ejercer su función biológica dentro de un amplio margen de concentraciones. En las personas resistentes a la insulina el cuerpo segrega anormalmente grandes cantidades de insulina para compensar este defecto. La presencia de estas cantidades inadecuadas de insulina para compensar la resistencia a la misma y controlar apropiadamente la glucosa provoca un estado de menor tolerancia a la insulina. En un número significativo de personas disminuye la secreción de insulina y aumenta el nivel de glucosa en plasma, dando como resultado un cuadro clínico de diabetes. La diabetes de tipo 2 puede ser consecuencia de una profunda resistencia a la estimulación por insulina de los efectos reguladores de la glucosa y del metabolismo de los lípidos en los principales tejidos sensibles a la insulina: muscular, hepático y adiposo. Esta resistencia a la capacidad de respuesta a la insulina disminuye la absorción, oxidación y acumulación de glucosa en el músculo, activadas por la insulina, y reprime inadecuadamente la lipólisis en el tejido adiposo y la producción y secreción de glucosa en el hígado, activadas también por la insulina. En la diabetes de tipo 2 los niveles de ácidos grasos libres son frecuentemente altos en pacientes obesos y en algunos no obesos y aumenta la oxidación de lípidos.

El desarrollo prematuro de aterosclerosis y un índice superior de enfermedades cardiovasculares y de trastornos vasculares periféricos son característicos de los pacientes diabéticos. La hiperlipidemia es un importante factor de precipitación de estas enfermedades. La hiperlipidemia es un estado caracterizado generalmente por un aumento anormal de los lípidos en el suero del torrente sanguíneo y es un importante factor de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis y enfermedades cardíacas. Para repasar los trastornos del metabolismo de los lípidos, véase p.ej. Wilson, J. y otros, (ed.), Disorders of Lipid Metabolism, capítulo 23, Textbook of Endocrinology, 9ª edición, (W.B. Sanders Company, Philadelphia, PA U.S.A. 1998). Las lipoproteínas del suero son los portadores de lípidos en la circulación. Se clasifican de acuerdo con su densidad: quilomicrones; lipoproteínas de densidad muy baja (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). La hiperlipidemia suele clasificarse como primaria o secundaria. La hiperlipidemia primaria es causada en general por defectos genéticos, mientras que la hiperlipidemia secundaria es debida generalmente a otros factores, tales como diversos estados patológicos, drogas y factores dietéticos. Alternativamente la hiperlipidemia puede ser el resultado de una combinación de las causas de la hiperlipidemia primaria y secundaria. Los niveles elevados de colesterol están relacionados con una serie de estados patológicos, incluyendo la enfermedad coronaria arterial, la angina de pecho, la enfermedad carotídea arterial, apoplejías, arteriosclerosis cerebral y xantoma.

La dislipidemia, o niveles anormales de lipoproteínas en el plasma sanguíneo, es un trastorno frecuente entre los diabéticos y, como se ha demostrado, uno de los que más contribuye a la mayor incidencia de sucesos coronarios y muertes entre los sujetos diabéticos (véase p.ej. Joslin, E. Ann. Chim. Med. (1927) 5:1061-1079). Desde entonces los estudios epidemiológicos han confirmado esta relación y han demostrado que el número de muertes coronarias entre sujetos diabéticos es varias veces superior en comparación con sujetos no diabéticos (véase p.ej. Garcia, M. J.

y otros, Diabetes (1974) 23: 105-11 (1974); y Laakso, M. y Lehto, S., Diabetes Reviews (1997) 5(4): 294-315). Se han descrito varias anormalidades lipoproteicas entre sujetos diabéticos (Howard B., y otros, Artherosclerosis (1978) 30: 153-162).

- 5 En estudios anteriores del año 1970 y siguientes se ha demostrado la eficacia del 2-acetamidoetil (4-clorofenil) (3-trifluorometilfenoxi) acetato racémico (también llamado "halofenato") como potencial agente terapéutico para tratar la diabetes de tipo 2, la hiperlipidemia y la hiperuricemia (véase p.ej. Bolhofer, W., U.S. 3,517,050; Jain, A. y otros, N. Eng. J. Med. (1975) 293: 1283-1286; Kudzma, D. y otros, Diabetes (1977) 25: 291-95; Kohl, E. y otros, Diabetes Care (1984) 7: 19-24; McMahon, F.G. y otros, Univ. Mich. Med. Center J. (1970) 36: 247-248; Simori, C. y otros, Lipids (1972) 7: 96-99; Morgan, J.P. y otros, Clin. Pharmacol. Therap. (1971) 12: 517-524, Aronow, W.S. y otros, Clin. Pharmacol Ther (1973) 14: 358-365 y Fanelli, G.M. y otros, J. Pharm. Experimental Therapeutics (1972) 180:377-396). En estos estudios previos se observó el efecto del halofenato racémico en la diabetes al combinarlo con sulfonilureas. El efecto sobre la glucosa fue mínimo en pacientes diabéticos tratados solamente con halofenato racémico. Sin embargo se observaron importantes efectos secundarios, incluyendo sangrado gastrointestinal desde el estómago y úlceras pépticas (véase p.ej. Friedberg, S.J. y otros, Clin. Res. (1986) Vol. 34, nº 2: 682A).

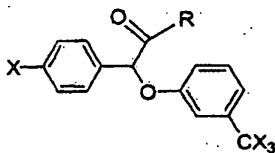
Además hubo algunos indicios de interacciones medicamentosas del halofenato racémico con agentes tales como el sulfato de warfarina (también conocida como 3-(alfa-acetonilbencil)-4-hidroxycumarina o Coumadin® (de Dupont Pharmaceuticals, E. I. Dupont de Nemours and Co., Inc., Wilmington, DE, U.S.A.) (véase p.ej. Vesell, E. S. y Passantanti, G.T., Fed. Proc. (1972) 31(2): 538). El Coumadin® es un anticoagulante que actúa inhibiendo la síntesis de los factores de coagulación dependientes de vitamina K (incluyendo los factores II, VII, IX y X, y las proteínas anticoagulantes C y S). Se cree que el Coumadin® es metabolizado estereoespecíficamente por enzimas hepáticas microsomales (los enzimas del citocromo P450). Entre los isoenzimas del citocromo P450 que intervienen en el metabolismo del Coumadin figuran 2C9, 2C19, 2C8, 2C18, 1A2 y 3A4. El 2C9 parece ser la principal forma de P450 hepático humano que modula *in vivo* el metabolismo de varios fármacos, incluyendo la actividad anticoagulante del Coumadin® (véase p.ej. Miners, J. O. y otros, Bri. J. Clin. Pharmacol. (1998) 45: 525-538).

Los fármacos que inhiben el metabolismo del Coumadin® disminuyen asimismo los factores de coagulación dependientes de vitamina K, previniendo más de lo deseado la coagulación en los pacientes que reciben este tipo de terapia (es decir, en los pacientes con riesgo de embolismo pulmonar o cerebral por coágulos de sangre en sus extremidades inferiores, corazón u otros sitios). La simple reducción de la dosis de anticoagulante es a menudo difícil, porque hay que mantener una anticoagulación adecuada para impedir la formación de coágulos sanguíneos. El aumento de anticoagulación resultante de la interacción medicamentosa constituye un riesgo importante para los pacientes que pueden sufrir hemorragias graves por lesiones de tejidos blandos, partes del aparato gastrointestinal (es decir úlceras gástricas o duodenales) u otras lesiones (p.ej. aneurisma aórtico). El sangrado en caso de excesiva anticoagulación constituye una urgencia médica que puede llevar a la muerte, si no se trata inmediatamente con una terapia apropiada.

También es conocido que el citocromo P450 2C9 interviene en el metabolismo de varios fármacos comúnmente usados, incluyendo dilantina, sulfonilureas como la tolbutamida y varios agentes antiinflamatorios no esteroideos como el ibuprofeno. La inhibición de este enzima puede producir otros efectos adversos debidos a interacciones medicamentosas, además de los arriba descritos para el Coumadin® (véase p.ej. Pelkonen, O. y otros, Xenobiotica (1998) 28: 1203-1253; Linn, J.H. y Lu, A.Y., Clin. Pharmacokinet. (1998) 35(5): 361-390).

Hay que solucionar dichas dificultades y deficiencias antes de que el halofenato resulte efectivo para el tratamiento rutinario de la resistencia a la insulina, de la diabetes de tipo 2, la hiperlipidemia y la hiperuricemia. La presente invención satisface este y otros requerimientos, ofreciendo composiciones y métodos para aliviar la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2, la hiperlipidemia y la hiperuricemia que poseen un mejor perfil de efectos adversos.

Según la presente invención se ofrece el uso de una cantidad terapéuticamente efectiva del (-) estereoisómero de un compuesto de la fórmula I



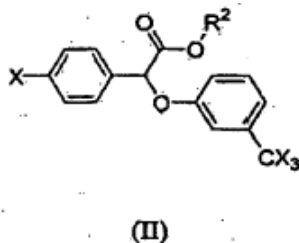
(I)

55 donde R es un miembro escogido del grupo formado por hidroxilo, aralcoxi inferior, dialquilamino inferior-alcoxi inferior, alcanamido inferior-alcoxi inferior, benzamido-alcoxi inferior, ureido-alcoxi inferior, N'-alquilo inferior-ureido-alcoxi inferior, carbamoíl-alcoxi inferior, alcoxi inferior sustituido con halofenoxi, fenoxi sustituido con carbamoílo, carbonilo-alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior-alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanóloxi inferior, ureido y

alcoxi inferior-carbonilamino, y X es un halógeno; o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, estando el compuesto prácticamente exento de su (+) estereoisómero, para tratar hiperuricemia en un mamífero.

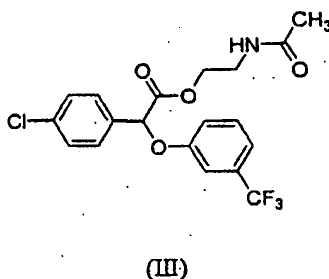
Alguno de estos usos comprende también un compuesto de la fórmula II:

5



donde R² es un miembro escogido del grupo formado por fenil-alquilo inferior, alcanamido inferior-alquilo inferior y benzamido-alquilo inferior.

10 Alguno de estos usos comprende también un compuesto de la fórmula III:



El compuesto preferido de la fórmula III es conocido como “(-) 2-acetamidoetil 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi) acetato” o “(-) halofenato”.

15

DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

La figura 1 representa la inhibición de la actividad del citocromo P450 2C9 (CYP2C9) por los ácidos halofénico racémico, (-) halofénico y (+) halofénico. Se midió la hidroxilación de tolbutamida en presencia de concentraciones crecientes de estos compuestos. El ácido halofénico racémico inhibió el CYP2C9 con una CI50 de 0,45 μ M y el ácido (+) halofénico inhibió el CYP2C9 con una CI50 de 0,22 μ M. En cambio el ácido (-) halofénico fue 20 veces menos potente, con una CI50 aparente de 3,5 μ M.

20

La figura 2 representa el curso del descenso de glucosa tras una dosis oral de 250 mg/kg de halofenato racémico, de (-) enantiómero de halofenato o de (+) enantiómero de halofenato en ratones ob/ob diabéticos. El (-) enantiómero mostró el inicio más rápido de la acción y su mayor duración. El descenso de glucosa fue significativo ($p < 0,05$) para el (-) enantiómero respecto al control en todos los puntos, desde las 3 hasta las 24 horas. El halofenato racémico y el (+) enantiómero también fueron significativos en todos los puntos, desde las 4,5 hasta las 24 horas. La glucosa en plasma a las 24 horas fue de $217 \pm 16,4$ mg/dl en los animales tratados con el (-) enantiómero, comparado con los $306 \pm 28,5$ mg/dl y $259,3 \pm 20,8$ mg/dl en animales tratados con el (+) enantiómero y el racemato respectivamente.

25

La glucosa en plasma de los controles tratados con vehículo fue $408 \pm 16,2$ mg/dl a las 24 horas. El (-) enantiómero fue más efectivo y significativamente distinto ($p < 0,05$) del (+) enantiómero tanto a las 3 horas como a las 24 horas.

30

La figura 3 representa la capacidad del halofenato racémico y de ambos enantiómeros (-) y (+) del halofenato para rebajar la glucosa en plasma de ratones ob/ob diabéticos tras la administración oral diaria. El racemato se dio a una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros a dosis de 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día. Se observaron importantes descensos de los niveles de glucosa respecto a los animales de control en los animales tratados con halofenato racémico y con ambos enantiómeros (-) y (+). A la dosis menor (125 mg/kg/día) de tratamiento con los enantiómeros (-) y (+) el (-) enantiómero fue significativo a las 6, 27 y 30 horas, mientras que el (+) enantiómero lo fue solo a las 6 y 27 horas.

35

La figura 4 representa los niveles de insulina en el plasma de ratones ob/ob tratados con halofenato racémico y con ambos enantiómeros (-) y (+) de halofenato en ratones ob/ob diabéticos después de la administración oral diaria. El racemato se administró a una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros a dosis de 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día. Respecto al control de vehículo los niveles de insulina fueron menores en los animales tratados con el racemato o con los enantiómeros de halofenato. A la dosis mayor, la máxima disminución de insulina en plasma se registró a las 27 y a las 30 horas en animales tratados con ambos enantiómeros (-) y (+) de halofenato, después de dos días de tratamiento.

40

45

La figura 5 representa los niveles de glucosa en plasma de ratones ob/ob tras un ayuno nocturno después de 5 días de tratamiento con vehículo, halofenato racémico a 250 mg/kg/día, (-) enantiómero de halofenato a 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día o con (+) enantiómero de halofenato a 125 mg/kg/día o 250 mg/kg/día. Los animales de control eran

hiperglucémicos, con unos niveles de glucosa en plasma de $185,4 \pm 12,3$ mg/dl. Todos los animales tratados con halofenato mostraron reducciones de glucosa significativas ($p < 0,01$). Las dosis elevadas de ambos enantiómeros rebajaron la glucosa hasta niveles normales de $127,3 \pm 8,0$ mg/dl y $127,2 \pm 9,7$ mg/dl en los animales tratados con el (-) enantiómero y el (+) enantiómero respectivamente.

5 La figura 6 muestra los niveles de insulina en plasma tras el ayuno nocturno en ratones ob/ob tratados con vehículo, con halofenato racémico a 250 mg/kg/día, con (-) enantiómero de halofenato a 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día o con (+) enantiómero de halofenato a 125 mg/kg/día o 250 mg/kg/día durante 5 días. Se observaron niveles de insulina en plasma significativamente menores en los animales que recibieron ambas dosis de (-) enantiómero. La dosis baja del (+) enantiómero de halofenato no rebajó el nivel de insulina en plasma, aunque la dosis alta del (+) enantiómero sí lo disminuyó.

10 La figura 7A muestra los niveles de glucosa en plasma tras una sobrecarga de glucosa oral en ratas Zucker obesas, un modelo de resistencia a la insulina y de menor tolerancia a la glucosa. Estos animales se trataron con un control de vehículo, halofenato racémico, (-) halofenato o (+) halofenato 5,5 horas antes de la sobrecarga de glucosa. El racemato se administró a 100 mg/kg y ambos enantiómeros a 50 y 100 mg/kg. En los animales de control la glucosa subió a > 250 mg/dl 30 minutos después de la sobrecarga, una clara señal de mala tolerancia a la glucosa. El nivel de glucosa en plasma bajó en las ratas que recibieron halofenato racémico, especialmente 30 - 60 minutos después de la sobrecarga. Los animales que recibieron el (-) halofenato a 100 mg/kg tuvieron el mayor grado de descenso de glucosa de todos los animales tratados. Los animales tratados con el (-) halofenato tuvieron niveles más bajos de glucosa, que se mantenían a los 90-120 minutos, en comparación con las ratas tratadas con el racemato o con el (+) halofenato. En la figura 7B se compara el área incremental bajo la curva (ABC) para los animales de cada grupo. Se observaron cambios significativos ($p < 0,05$) en los grupos tratados con ambas dosis del (-) halofenato. Aunque el ABC de los otros grupos fue menor que el control, los cambios no fueron significativos.

15 La figura 8 muestra los resultados de un breve ensayo de tolerancia a la insulina en ratas Zucker obesas tratadas con un control de vehículo, (-) halofenato (50 mg/kg/día) o (+) halofenato (50 mg/kg/día) durante 5 días. Este ensayo es una medida de la sensibilidad a la insulina de los animales sometidos al experimento; donde la pendiente del descenso de glucosa representa una medición directa de la capacidad de respuesta a la insulina. Los animales tratados con el (-) halofenato resultaron significativamente más sensibles a la insulina que los tratados con vehículo ($p < 0,01$) o con el (+) ($p < 0,05$).

20 La figura 9A muestra los niveles de colesterol en plasma de ratas Zucker obesas y diabéticas tratadas durante 13 días con halofenato racémico, (-) halofenato o (+) halofenato a dosis de 50 mg/kg/día, 25 mg/kg/día o 25 mg/kg/día, respectivamente, en comparación con un grupo de control tratado con vehículo. En los animales tratados con el (-) halofenato y con el racemato bajó el nivel de de colesterol en plasma. En los animales tratados con el (+) halofenato permaneció relativamente constante, pero subió en los animales de control. La figura 9B compara las diferencias de colesterol en plasma entre el grupo de control y los grupos tratados. El (-) enantiómero fue la más activa de las especies ensayadas.

25 La figura 10A muestra los niveles de colesterol en plasma de ratas Zucker obesas y diabéticas tratadas durante 14 días con (-) enantiómero o (+) enantiómero de halofenato a 12,5 mg/kg/día (dosis baja) o 37,5 mg/kg/día (dosis alta) respecto a un grupo de control tratado con vehículo. En los animales tratados con la dosis alta de (-) enantiómero hubo el mayor grado de reducción de colesterol. La figura 10B compara las diferencias de colesterol en plasma entre el control y los grupos tratados. Hubo diferencias significativas en los animales tratados con el (-) enantiómero después de 7 días a dosis baja y después de 7 días a dosis alta. El (+) enantiómero solo dio resultados significativos después de 7 días a dosis alta.

30 La figura 11A muestra los niveles de triglicéridos en plasma de ratas Zucker obesas y diabéticas tratadas con (-) enantiómero o (+) enantiómero a 12,5 mg/kg/día (dosis baja) o 37,5 mg/kg/día (dosis alta) respecto a un grupo de control tratado con vehículo. Los animales tratados con la dosis alta de (-) enantiómero tuvieron los niveles más bajos de triglicéridos de todos los grupos de tratamiento. La figura 11B compara las diferencias de triglicéridos en plasma entre el control y los grupos tratados. A los 7 días la dosis alta de los enantiómeros (+) y (-) dio un descenso significativo de triglicéridos en plasma.

35 La figura 12 muestra los niveles de glucosa en plasma de ratas Zucker obesas y diabéticas tratadas con vehículo, (-) halofenato o (+) halofenato a los días 0, 2 y 3. El tratamiento con (-) halofenato disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma en comparación con los animales tratados con vehículo.

40 La figura 13 muestra las concentraciones de glucosa en plasma en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db respecto a un grupo tratado con (-) halofenato. En el grupo de control los niveles de glucosa en plasma aumentaron progresivamente con la edad de los animales, mientras que en el grupo tratado con (-) halofenato el incremento de los niveles de glucosa en plasma fue evitado o significativamente frenado.

45 La figura 14 muestra los niveles de insulina en plasma en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db respecto a un grupo tratado con (-) halofenato. El tratamiento con el (-) halofenato mantuvo la concentración de insulina en plasma, mientras que en el grupo de control descendió progresivamente.

50 La figura 15 muestra el porcentaje de ratones no diabéticos en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db respecto a un grupo tratado con (-) halofenato. Aproximadamente el 30% de los ratones del grupo tratado con (-) halofenato no desarrolló diabetes (niveles de glucosa en plasma < 250 mg/dl), mientras que todos los del grupo de control lo hizo a la edad de 10 semanas.

55 La figura 16 muestra los niveles de triglicéridos en plasma de un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db en comparación con un grupo tratado con (-) halofenato. El tratamiento con (-) halofenato alivió la hiperlipidemia, pero en el grupo de control no hubo alivio.

La figura 17 muestra el efecto del (-) halofenato y del (+) halofenato sobre los niveles de ácido úrico en plasma de ratas con hiperuricemia inducida por ácido oxónico. La administración oral de (-) halofenato redujo significativamente los niveles de ácido úrico. El (+) halofenato también redujo los niveles de ácido úrico en plasma, pero no de manera estadísticamente significativa.

5

DEFINICIONES

El término “mamífero” incluye, sin limitaciones, humanos, animales domésticos (p.ej. perros o gatos), animales de granja (vacas, caballos o cerdos), monos, conejos, ratones y animales de laboratorio.

10

El término “resistencia a la insulina” puede definirse generalmente como un trastorno del metabolismo de la glucosa. De manera más específica la resistencia a la insulina se puede definir como la menor capacidad de la insulina para ejercer su acción biológica en un amplio margen de concentraciones que producen un efecto biológico menor del esperado (véase p.ej. Reaven, G. M., J. Basic & Clin. Phys. & Pharm. (1998) 9: 387-406 y Flier, J. Ann Rev. Med. (1983) 34: 145-60). Las personas resistentes a la insulina tienen menor capacidad para metabolizar adecuadamente la glucosa y su respuesta a la terapia con insulina es pobre, si la hay. Las manifestaciones de la resistencia a la insulina incluyen menor absorción, oxidación y acumulación de glucosa en el músculo, activadas por la insulina, y represión inadecuada de la lipólisis en el tejido adiposo y de la producción y secreción de glucosa en el hígado, activadas también por la insulina. La resistencia a la insulina puede causar o promover síndrome ovárico policístico, menor tolerancia a la glucosa (IGT), diabetes gestacional, hipertensión, obesidad, aterosclerosis y otros trastornos diversos. Con el tiempo las personas resistentes a la insulina pueden llegar a un punto en que se alcanza un estado diabético. La asociación de la resistencia a la insulina con intolerancia a la glucosa, mayor nivel de triglicéridos en plasma y descenso de las concentraciones de colesterol lipoproteico de alta densidad, presión sanguínea elevada, hiperuricemia, partículas lipoproteicas de baja densidad más pequeñas y densas y mayores niveles de inhibidor-1 del activador de plasminógeno en la circulación ha sido designada como “Síndrome X” (véase p.ej. Reaven, G. M., Physiol. Rev. (1995) 75: 473-486).

15

20

25

El término “diabetes mellitus” o “diabetes” significa una enfermedad o estado caracterizado por defectos metabólicos en la producción y utilización de glucosa que como resultado producen el fallo del mantenimiento de los niveles adecuados de azúcar en la sangre. El resultado de estos defectos es un alto nivel de glucosa en sangre, conocido como “hiperglucemia”. Las dos formas principales de diabetes son la diabetes de tipo 1 y la diabetes de tipo 2. Como se ha descrito arriba, la diabetes de tipo 1 es generalmente el resultado de una carencia absoluta de insulina, la hormona que regula la utilización de la glucosa. La diabetes de tipo 2 se presenta a menudo con niveles normales o incluso altos de insulina, y puede ser el resultado de la incapacidad de los tejidos para responder adecuadamente a la insulina. La mayoría de los pacientes con diabetes de tipo 2 son resistentes a la insulina y tienen una carencia relativa de insulina, porque la secreción de insulina no puede compensar la resistencia de los tejidos periféricos para responder a la insulina. Además muchos diabéticos de tipo 2 son obesos. Otros tipos de trastorno de la homeostasis de la glucosa incluyen la mala tolerancia a la glucosa, que es un estado metabólico intermedio entre la homeostasis normal de la glucosa y la diabetes, y la diabetes mellitus gestacional, que es una intolerancia a la glucosa en mujeres embarazadas sin historial previo de diabetes de tipo 1 o de de tipo 2.

30

35

40

El término “diabetes secundaria” se refiere a la diabetes resultante de otras etiologías identificables, incluyendo: defectos genéticos de la función de las células β (p.ej. la diabetes juvenil de aparición en la madurez, conocida como “MODY” por su sigla en inglés [*maturity onset-type diabetes of youth*], que es una forma temprana de diabetes de tipo 2 de herencia autosómica; véase p.ej. Fajans S. y otros, Diabet. Med. (1996) (9 Suppl 6): p. 90-5 y Bell, G. y otros, Annu. Rev. Physiol. (1996) 58: 171-86; defectos genéticos en la acción de la insulina; enfermedades del páncreas exocrino (p.ej. hemocromatosis, pancreatitis y fibrosis cística); ciertas enfermedades endocrinas en que el exceso de hormonas interfiere en la acción de la insulina (p.ej. la hormona del crecimiento en la acromegalia y el cortisol en el síndrome de Cushing); algunos fármacos que suprimen la secreción de insulina (p.ej. la fenitoína) o inhiben su acción (p.ej. los estrógenos y los glucocorticoides); y la diabetes causada por infecciones (p.ej. rubeola, virus de Coxsackie y CMV); así como otros síndromes genéticos.

45

50

Las pautas para diagnosticar la diabetes de tipo 2, la mala tolerancia a la glucosa y la diabetes gestacional han sido esquematizadas por la American Diabetes Association (véase p.ej. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care, (1999) Vol 2 (Suppl 1): p. 5-19).

55

El término “ácido halofénico” se refiere a la forma ácida del ácido 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético.

El término “hiperinsulinemia” se refiere a la presencia de un nivel anormalmente alto de insulina en la sangre.

60

El término “hiperuricemia” se refiere a la presencia de un nivel anormalmente alto de ácido úrico en la sangre.

El término “secretagogo” se refiere a una sustancia o a un compuesto que estimula la secreción. Por ejemplo, un secretagogo de insulina es una sustancia o compuesto que estimula la secreción de insulina.

65

El término “hemoglobina” o “Hb” se refiere a un pigmento respiratorio presente en los eritrocitos, que es en gran parte responsable del transporte de oxígeno. Una molécula de hemoglobina lleva cuatro subunidades polipeptídicas

(dos sistemas de cadena α y dos sistemas de cadena β , respectivamente). Cada subunidad se forma por asociación de una proteína globina y una molécula de hemo, que es un complejo de hierro-protoporfirina. La principal clase de hemoglobina que se encuentra en un hemolizado normal de adulto es la hemoglobina adulta (designada como "HbA"; también denominada HbA₀ para distinguirla de la hemoglobina glicada, que se designa como "HbA₁" y se describe a continuación), que tiene subunidades $\alpha_2\beta_2$. En el hemolizado normal de adulto también pueden hallarse trazas de componentes tales como HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$).

Entre las clases de hemoglobina adulta HbA hay una hemoglobina glicada (denominada "HbA₁", o "hemoglobina glicosilada") que puede dividirse adicionalmente en HbA_{1a1}, HbA_{1a2}, HbA_{1b}, y HbA_{1c} con una resina intercambiadora iónica de fraccionamiento. Todas estas subclases poseen la misma estructura principal, que está estabilizada por la formación de una aldimina (base de Schiff), mediante el grupo amino de la valina N-terminal en la cadena de la subunidad β de la hemoglobina normal HbA y glucosa (o glucosa-6-fosfato o fructosa), seguida de la formación de cetoamina por el reagrupamiento de Amadori.

El término "hemoglobina glicosilada" (también denominada "HbA_{1c}", "GHb", "hemoglobina-glicosilada", "índice de control diabético" y "glucohemoglobina"; designada aquí en lo sucesivo como "hemoglobina A_{1c}") se refiere a un producto estable de la glicosilación no enzimática de la cadena β de la hemoglobina por la glucosa del plasma. La hemoglobina A_{1c} comprende la porción principal de hemoglobinas glicadas en la sangre. El índice de hemoglobina glicosilada es proporcional al nivel de glucosa en sangre. Por lo tanto la tasa de formación de hemoglobina A_{1c} aumenta directamente con el incremento de los niveles de glucosa en plasma. Como la glicosilación tiene lugar a una velocidad constante durante los 120 días de tiempo de vida de un eritrocito, la medición de los niveles de hemoglobina glicosilada refleja el nivel medio de glucosa en sangre de un individuo correspondiente a los dos o tres meses anteriores. Por consiguiente la determinación de la cantidad de hemoglobina glicosilada HbA_{1c} puede ser un buen índice para controlar el metabolismo de los carbohidratos. Por tanto los niveles de glucosa en sangre de los dos últimos meses se pueden estimar basándose en la proporción de HbA_{1c} respecto a la hemoglobina total Hb. El análisis de la hemoglobina A_{1c} en sangre se utiliza como una medición que permite controlar el nivel de glucosa en sangre a largo plazo (véase p.ej. Jain, S., y otros, Diabetes (1989) 38: 1539-1543; Peters A., y otros, JAMA (1996) 276: 1246-1252).

Tal como se emplea aquí, conforme al uso común, el término "síntoma" diabético incluye, sin limitación, poliuria, polidipsia, y polifagia. Por ejemplo, "poliuria" significa el paso de un gran volumen de orina durante un determinado periodo de tiempo, "polidipsia" significa sed excesiva crónica y "polifagia" comer excesivamente. Otros síntomas de diabetes incluyen p.ej. mayor susceptibilidad a determinadas infecciones (particularmente infecciones por hongos y estafilococos), náuseas y cetoacidosis (producción acentuada de cuerpos cetónicos en la sangre).

El término "complicación" diabética incluye, sin limitación, complicaciones microvasculares y macrovasculares. Las complicaciones microvasculares son aquellas que generalmente producen daños en vasos sanguíneos pequeños. Estas complicaciones incluyen p.ej. retinopatía (debilitación o pérdida de visión por daño de los vasos sanguíneos del ojo), neuropatía (quebranto nervioso y problemas en los pies por daño de los vasos sanguíneos del sistema nervioso) y nefropatía (enfermedades renales por daño de los vasos sanguíneos de los riñones). Las complicaciones macrovasculares son aquellas generalmente debidas al daño de vasos sanguíneos grandes. Estas complicaciones incluyen p.ej. enfermedades cardiovasculares y trastornos vasculares periféricos. Enfermedad cardiovascular se refiere a enfermedades de los vasos sanguíneos del corazón. Véase p.ej. Kaplan, R. M., y otros, "Cardiovascular diseases" en HEALTH AND HUMAN BEHAVIOR [SALUD Y CONDUCTA HUMANA], págs. 206-242 (McGraw-Hill, Nueva York 1993). La enfermedad cardiovascular tiene generalmente varias formas, incluyendo p.ej. hipertensión (también denominada presión sanguínea elevada), enfermedad cardíaca coronaria, apoplejía y enfermedad cardíaca reumática. Enfermedad vascular periférica se refiere a enfermedades de cualquiera de los vasos sanguíneos fuera del corazón. A menudo es un estrechamiento de los vasos sanguíneos que transportan la sangre a los músculos de brazos y piernas.

El término "aterosclerosis" abarca dolencias y enfermedades vasculares reconocidas y entendidas por médicos que ejercen en los campos relevantes de la medicina. Enfermedad cardiovascular aterosclerótica, enfermedad cardíaca coronaria (conocida también como enfermedad arterial coronaria o enfermedad cardíaca isquémica), enfermedad cerebrovascular y enfermedad vascular periférica son todas ellas manifestaciones clínicas de aterosclerosis y por tanto se engloban en el término "aterosclerosis" y "enfermedad aterosclerótica".

El término "antihiperlipidémico" se refiere a la disminución de las concentraciones excesivas de lípidos en sangre hasta los niveles deseados.

El término "antiuricémico" se refiere a la disminución de las concentraciones excesivas de ácido úrico en sangre hasta los niveles deseados.

El término "hiperlipidemia" se refiere a la presencia de un nivel anormalmente elevado de lípidos en la sangre. La hiperlipidemia puede aparecer al menos en tres formas: (1) hipercolesterolemia, es decir un nivel de colesterol alto; (2) hipertrigliceridemia, es decir un nivel alto de triglicéridos; y (3) hiperlipidemia combinada, es decir una mezcla de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

El término “modular” se refiere al tratamiento, prevención, supresión, aumento o inducción de una función o estado. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden modular la hiperlipidemia suprimiéndola mediante la disminución del colesterol en una persona.

- 5 El término “tratar” significa controlar y cuidar un sujeto humano con el propósito de combatir la enfermedad, estado, o trastorno, incluyendo la administración de un compuesto de la presente invención para evitar la aparición de síntomas o complicaciones, aliviar los síntomas o complicaciones o eliminar la enfermedad, estado o trastorno.

10 El término “prevenir” significa controlar y cuidar un sujeto humano para que no aparezcan los síntomas de una enfermedad, estado o trastorno.

15 Tal como se emplea aquí, conforme a su uso común, el término “colesterol” se refiere a un alcohol esteroide que es un componente fundamental de las membranas celulares y de las vainas de mielina. El colesterol sirve también de precursor de las hormonas esteroideas y de los ácidos biliares.

Tal como se utiliza aquí, el término “triglicérido(s)” (“TG”) se refiere a su empleo común. Los TG constan de tres moléculas de ácido graso esterificadas con una molécula de glicerina y sirven para almacenar los ácidos grasos que usan las células musculares para producir energía o bien son absorbidos y acumulados en el tejido adiposo.

20 Como el colesterol y los TG son insolubles en agua tienen que agruparse en complejos moleculares especiales conocidos como “lipoproteínas” para ser transportados en el plasma. Las lipoproteínas pueden acumularse en el plasma por sobreproducción y/o eliminación deficiente. Al menos hay cinco lipoproteínas diferentes en cuanto a tamaño, composición, densidad y función. En las células del intestino delgado los lípidos de la dieta se agrupan en grandes complejos lipoproteicos llamados “quilomicrones”, que tienen un contenido alto de TG y bajo de colesterol.

25 En el hígado los ésteres de colesterol y de TG se acumulan y se liberan en el plasma como lipoproteínas ricas en TG llamadas lipoproteínas de muy baja densidad (“VLDL”), cuya función principal es el transporte endógeno de los TG producidos en el hígado o liberados por el tejido adiposo. Por acción enzimática, las VLDL pueden ser reducidas y absorbidas por el hígado o transformarse en lipoproteínas de densidad intermedia (“IDL”). A su vez, las IDL son absorbidas por el hígado o sufren otra modificación para formar las lipoproteínas de baja densidad (“LDL”). Las LDL son absorbidas y degradadas en el hígado o son captadas por tejido extrahepático. La lipoproteína de alta densidad (“HDL”) ayuda a eliminar el colesterol de los tejidos periféricos en un proceso denominado transporte inverso de colesterol.

35 El término “dislipidemia” se refiere a niveles anómalos de lipoproteínas en el plasma sanguíneo, incluyendo niveles inferiores y/o elevados de lipoproteínas (p.ej. niveles elevados de LDL, VLDL y niveles inferiores de HDL).

Como ejemplos de hiperlipidemia primaria cabe citar, sin limitarse a ellos, los siguientes:

- 40 (1) *hiperquilomicronemia familiar*, un trastorno genético raro que produce la carencia de un enzima, LP lipasa, que degrada moléculas de grasa. La carencia de LP lipasa puede producir la acumulación de grandes cantidades de grasa o lipoproteínas en la sangre;
- (2) *hipercolesterolemia familiar*, un trastorno genético relativamente común cuya causa subyacente es una serie de mutaciones en el gen receptor de LDL que da como resultado un mal funcionamiento de los receptores de LDL y/o la ausencia de receptores de LDL, lo cual produce una eliminación ineficaz de LDL por los receptores de LDL y el aumento de los niveles de LDL y de colesterol total en el plasma;
- 45 (3) *hiperlipidemia combinada familiar*, también conocida como hiperlipidemia de tipo lipoproteína múltiple; un trastorno hereditario por el cual los pacientes y sus familiares de primer grado afectados pueden presentar en varios momentos niveles altos de colesterol y triglicéridos. Los niveles de colesterol HDL suelen ser ligeramente menores;
- (4) *carencia familiar de apolipoproteína B-100* es una anomalía genética autosómica dominante relativamente común. El defecto es debido a una mutación nucleótida simple por sustitución de glutamina por arginina, que puede disminuir la afinidad de las partículas de LDL por el receptor de LDL. Como consecuencia se pueden incrementar los niveles los niveles de LDL y de colesterol total en el plasma;
- 50 (5) *disbetalipoproteinemia familiar*, también llamada hiperlipoproteinemia de tipo III, es un trastorno hereditario poco común que produce aumentos moderados hasta graves de los niveles de colesterol y de TG en suero con función anómala de la apolipoproteína E. Los niveles de HDL suelen ser normales; y
- 55 (6) *hipertrigliceridemia familiar* es un trastorno hereditario común en el cual la concentración de VLDL en plasma es elevada. Esto puede producir niveles de triglicéridos moderados hasta ligeramente elevados (pero usualmente no de colesterol) y a menudo se puede relacionar con niveles bajos de HDL en el plasma.

60 En la hiperlipidemia secundaria paradigmática cabe mencionar, sin limitarse a ellos, los siguientes factores de riesgo: (1) factores de riesgo patológicos tales como un historial de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, síndrome de Cushing, hipotiroidismo y determinados tipos de insuficiencia renal; (2) factores de riesgo farmacológico, incluyendo píldoras anticonceptivas, hormonas como el estrógeno y corticosteroides, ciertos diuréticos y varios bloqueadores β ; (3) factores de riesgo alimenticio, que incluyen una ingesta de grasa en la dieta por un total de calorías mayor del 40%,

65 ingesta de grasas saturadas por un total de calorías mayor del 10%, ingesta de colesterol superior a 300 mg diarios, consumo habitual y excesivo de alcohol y obesidad.

Los términos “obeso” y “obesidad” se refiere según la Organización mundial de la salud a un índice de masa corporal (IMC) mayor de 27,8 kg/m² para los hombres y 27,3 kg/m² para las mujeres (el IMC es igual a peso (kg)/altura (m²)). La obesidad está ligada a una variedad de estados médicos que incluyen diabetes e hiperlipidemia. La obesidad también es un factor de riesgo conocido para el desarrollo de la diabetes de tipo 2 (véase p.ej. Barreri-Conner, E., *Epidemol. Rev.* (1989) 11: 172-181; y Knowler, y otros, *Am. J. Clin. Nutr.* (1991) 53:1543-1551).

“Sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a las sales no tóxicas de metales alcalinos, metales alcalinotérreos y amonio utilizadas comúnmente en la industria farmacéutica, incluyendo las sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bario, amonio, y de protamina-cinc, que se preparan por métodos bien conocidos del estado técnico. El término también incluye sales de adición de ácido no tóxicas, que se preparan generalmente haciendo reaccionar los compuestos de la presente invención con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Como sales representativas cabe mencionar, sin limitarse a ellas, el hidrocloreto, hidrobromuro, sulfato, bisulfato, acetato, oxalato, valerato, oleato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, napsilato y análogos.

“Sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia y las propiedades biológicas de las bases libres y no son peligrosas desde el punto de vista biológico u otro, formadas por ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y por ácidos orgánicos como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido salicílico y similares. Para una descripción de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase p.ej. Bundgaard, H., ed., *Design of Prodrugs* (Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1985).

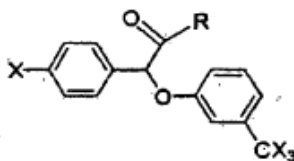
“Éster farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellos que tras la hidrólisis del enlace éster conservan la eficacia y las propiedades biológicas del ácido carboxílico o del alcohol y no son peligrosos desde el punto de vista biológico u otro. Para una descripción de ésteres farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H. arriba citado. Estos ésteres se forman habitualmente a partir del ácido carboxílico correspondiente y de un alcohol. En general la formación del éster puede efectuarse mediante técnicas convencionales de síntesis (véase p.ej. March *Advanced Organic Chemistry*, 3^a ed., p. 1157 (John Wiley & Sons, Nueva York 1985) y las referencias ahí citadas, y Mark y otros, *Encyclopedia of Chemical Technology*, (1980) John Wiley & Sons, Nueva York). El componente alcohólico del éster comprenderá generalmente: (i) un alcohol alifático C₂-C₁₂ que puede contener o no contener uno o más dobles enlaces y carbonos ramificados, o (ii) un alcohol aromático o heteroaromático C₇-C₁₂. La presente invención también contempla el uso de aquellas composiciones que son ésteres, tal como se describe aquí, y al mismo tiempo sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los mismos.

“Amida farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas que tras la hidrólisis del enlace amido conservan la eficacia y las propiedades biológicas del ácido carboxílico o de la amina y no son peligrosas desde el punto de vista biológico u otro. Para una descripción de amidas farmacéuticamente aceptables como profármacos, ver Bundgaard, H., ed. arriba citada. Estas amidas se forman usualmente a partir del ácido carboxílico correspondiente y una amina. En general la formación de la amida puede efectuarse mediante técnicas convencionales de síntesis. Véase p.ej. March y otros, *Advanced Organic Chemistry*, 3^a ed., p. 1152 (John Wiley & Sons, Nueva York 1985) y Mark y otros, *Encyclopedia of Chemical Technology*, (John Wiley & Sons, Nueva York 1980). La presente invención también contempla el uso de aquellas composiciones que son amidas, tal como se describe aquí, y al mismo tiempo sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de las mismas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

(1) General

La presente invención se refiere al empleo reivindicado de un derivado preferido del ácido (-) (3-trihalometilfenoxi)-(4-halofenil)acético que tiene la siguiente fórmula general:

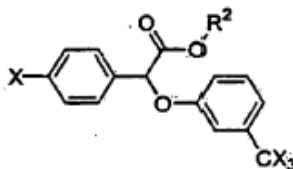


Fórmula I

En la fórmula I R es un grupo funcional, incluyendo, sin limitarse a ellos, los siguientes: hidroxilo, aralcoxi inferior, p.ej. fenilalcoxi inferior como benciloxi, fenetiloxi; dialquilamino inferior-alcoxi inferior y las sales de adición de ácido no tóxicas, farmacológicamente aceptables de los mismos, p.ej. dimetilaminoetoxi, dietilaminoetoxi hidrocloreto, dietilaminoetoxi citrato, dietilaminopropoxi; alcanamido inferior-alcoxi inferior, p.ej. formamidoetoxi, acetamidoetoxi o acetamidopropoxi; benzamidoalcoxi inferior, p.ej. benzamidoetoxi o benzamidopropoxi; ureidoalcoxi inferior, p.ej.

ureidoetoxi o 1-metil-2-ureidoetoxi; N'-alquilo inferior-ureido-alcoxi inferior, es decir $R^1NH-CONH-C_nH_{2n}-O-$ donde R^1 representa alquilo inferior y n es un número entero con un valor entre 1 y aproximadamente 5, p.ej. N'-etil-ureidoetoxi o N'-etil-ureidopropoxi; carbamoil-alcoxi inferior, p.ej. carbamoilmetoxi o carbamoiletoxi; alcoxi inferior sustituido con halofenoxi, p.ej. 2-(4-clorofenoxi)-etoxi o 2-(4-clorofenoxi)-2-metilpropoxi; fenoxi sustituido con carbamoilo, p.ej. 2-carbamoilfenoxi; carboxil-alquilamino inferior y las sales no tóxicas de adición de amina farmacológicamente aceptables de los mismos, p.ej. sal de ciclohexilamina de carboximetilamino o carboxietilamina; N,N-dialquilamino inferior-alquilamino inferior y las sales no tóxicas de disoluciones de ácido farmacológicamente aceptables de los mismos, p.ej. N,N-dimetilaminoetilamino hidrocloreuro, N,N-dietilaminoetilamino, citrato de N,N-dietilaminoetilamino o citrato de N,N-dimetilaminopropilamino; alquilamino inferior sustituido con halógeno, p.ej. 2-cloroetilamino o 4-clorobutilamino; alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, p.ej. 2-hidroxiethylamino o 3-hidroxi-propilamino; alquilamino inferior sustituido con alcanóilo inferior, p.ej. acetoxietilamino o acetoxipropilamino; ureido; alcoxycarbonilamino inferior, p.ej. metoxycarbonilamino (es decir $-NHCOOCH_3$) o etoxycarbonilamino (es decir $CH_3COOC_2H_5-$). En una forma de ejecución preferida R se elige de modo que sea un fragmento hidrolizable, tal como un éster o una amida, y al hidrolizar el enlace éster o amida, el compuesto sea biológicamente activo tal como los ésteres o las amidas farmacéuticamente aceptables como profármacos. En la fórmula I X es un halógeno, p.ej. cloro, bromo, flúor o yodo.

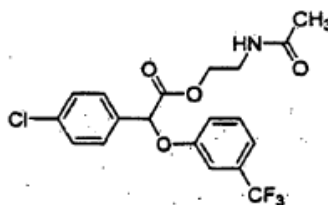
En una forma de ejecución preferida la presente invención se refiere al empleo reivindicado de los derivados del ácido (-) (3-trihalometilfenoxi)-(4-halofenil)acético que tiene la siguiente fórmula general:



Fórmula II

En la fórmula II R^2 es un grupo funcional, incluyendo, sin limitarse a ellos, los siguientes: hidrógeno, fenil-alquilo inferior, p.ej. bencilo; alcanamido inferior, p.ej. acetamidoetilo; o benzamido-alquilo inferior, p.ej. benzamidoetilo. En la fórmula II X es un halógeno, p.ej. cloro, bromo, flúor o yodo.

En otra forma de ejecución preferida la presente invención se refiere al empleo reivindicado de un compuesto que tiene la fórmula:



Fórmula III

El compuesto de la fórmula III se denomina "(-) 2-acetamidoetil 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)acetato" (también llamado "(-) halofenato").

Los cambios en el metabolismo del fármaco mediados por la inhibición de los enzimas del citocromo P450 tienen un gran potencial para precipitar efectos adversos importantes en los pacientes. Los efectos se observaron previamente en pacientes tratados con halofenato racémico. En los estudios presentes se vio que el ácido halofénico racémico inhibe el citocromo P450 2C9, que, como se sabe, es un enzima que juega un papel significativo en el metabolismo de fármacos específicos, lo cual puede causar problemas importantes de interacción con fármacos anticoagulantes, antiinflamatorios y otros fármacos metabolizados por este enzima. Sin embargo, de modo totalmente sorprendente se observó una diferencia sustancial entre los enantiómeros del ácido halofénico en cuanto a su incapacidad de inhibir el citocromo P450 2C9, pues, mientras que el (-) enantiómero era aproximadamente veinte veces menos activo, el (+) enantiómero era bastante potente (véase el ejemplo 7). Por tanto el empleo del (-) enantiómero de los compuestos de fórmula I, fórmula II o fórmula III evitará la inhibición de este enzima y los efectos adversos sobre el metabolismo del fármaco anteriormente observados con halofenato racémico.

La presente invención incluye un método para modular la resistencia a la insulina en un mamífero, que consiste en: administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tenga la estructura general de la fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una forma de ejecución actualmente preferida el compuesto tiene la estructura general de la fórmula II. En otra forma de ejecución preferida el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. De manera totalmente sorprendente este método evita los efectos adversos asociados a la administración de una mezcla racémica de halofenato, proporcionando una cantidad del (-) estereoisómero de los compuestos de fórmula I, fórmula II o fórmula III que es insuficiente para producir los efectos adversos asociados a

la inhibición del citocromo P450 2C9.

La presente invención también incluye un método para modular la diabetes tipo 2 en un mamífero, que consiste en: administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tenga la estructura general de la fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una forma de ejecución actualmente preferida el compuesto tiene la estructura general de la fórmula II. En otra forma de ejecución preferida el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. De manera totalmente sorprendente este método evita los efectos adversos asociados a la administración de una mezcla racémica de halofenato, proporcionado una cantidad del (-) estereoisómero de los compuestos de fórmula I, fórmula II o fórmula III que es insuficiente para producir los efectos adversos asociados a la inhibición del citocromo P450 2C9.

La presente invención también incluye un método para modular la hiperlipidemia en un mamífero, que consiste en: administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tenga la estructura general de la fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una forma de ejecución actualmente preferida el compuesto tiene la estructura general de la fórmula II. En otra forma de ejecución preferida el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. De manera totalmente sorprendente este método evita los efectos adversos asociados a la administración de una mezcla racémica de halofenato, proporcionado una cantidad del (-) estereoisómero de los compuestos de fórmula I, fórmula II o fórmula III que es insuficiente para producir los efectos adversos asociados a la inhibición del citocromo P450 2C9.

La mezcla racémica del halofenato (es decir, una mezcla racémica 1:1 de los dos enantiómeros) posee actividad antihiperlipidémica y sirve para tratar y reducir la hiperglucemia relacionada con la diabetes cuando se combina con algunos otros fármacos comúnmente usados en la terapia de esta enfermedad. No obstante, a pesar de su esperada eficacia, esta mezcla racémica produce efectos adversos. El término "efectos adversos" incluye, sin limitarse a ellos, náuseas, úlceras gastrointestinales y hemorragia gastrointestinal. Se ha informado de otros efectos secundarios del halofenato racémico, incluyendo posibles problemas con interacciones medicamentosas, sobre todo dificultades para controlar la anticoagulación con Coumadin[®]. El uso de compuestos de la presente invención sustancialmente puros define con mayor claridad la dosificación en cuanto a eficacia, menores efectos adversos y por tanto mejor índice terapéutico. Así se ha encontrado ahora que es más conveniente y ventajoso administrar el (-) enantiómero de halofenato en lugar del halofenato racémico.

La presente invención también incluye el empleo de los compuestos reivindicados en un método para modular la hiperuricemia en un mamífero, que consiste en: administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tenga la estructura general de la fórmula I o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una forma de ejecución actualmente preferida el compuesto tiene la estructura general de la fórmula II. En otra forma de ejecución preferida el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. De manera completamente sorprendente este método evita los efectos adversos relacionados con la administración de una mezcla racémica de halofenato, proporcionado una cantidad del (-) estereoisómero de los compuestos de fórmula I, fórmula II o fórmula III que es insuficiente para producir los efectos adversos asociados a la inhibición del citocromo P450 2C9.

(2) (-) Enantiómeros de fórmula I, fórmula II y fórmula III

Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada en el plano. Al describir un compuesto ópticamente activo se emplean los prefijos R y S para indicar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral(es). Los prefijos "d" y "l" o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación de la luz polarizada en el plano por el compuesto, significando (-) y l que el compuesto es "levógiro" y (+) o d que es "dextrógiro". No existe ninguna correlación entre la nomenclatura de la estereoquímica absoluta y la de la rotación de un enantiómero. Para una estructura química determinada estos compuestos, llamados "estereoisómeros", son idénticos, exceptuando que son imágenes especulares uno del otro. Un estereoisómero específico también se puede denominar "enantiómero" y una mezcla de tales isómeros se llama a menudo mezcla "enantiomérica" o "racémica". Véase p.ej. Streitwieser, A. & Heathcock, C.H., INTRODUCTION TO ORGANIC CHEMISTRY, 2ª edición, capítulo 7 (MacMillan Publishing Co., EE.UU. 1981).

La síntesis química de la mezcla racémica de los halofenatos derivados del ácido (3-trihalometilfenoxi)-(4-halofenil)-acético se puede realizar por los métodos descritos en la patente U.S. nº 3,517,050. La síntesis de los compuestos de la presente invención también está descrita en los ejemplos citados anteriormente. Los enantiómeros individuales pueden obtenerse mediante la resolución de la mezcla racémica de enantiómeros, usando medios convencionales conocidos y empleados por los especialistas. Véase p.ej. Jaques, J. y otros, en ENANTIOMERS, RACEMATES, AND RESOLUTIONS, John Wiley and Sons, Nueva York (1981). También se pueden emplear otros métodos de resolución estándar conocidos de los especialistas, incluyendo, sin limitarse a ellos, cristalización simple y resolución cromatográfica (véase p.ej. STEREOCHEMISTRY OF CARBON COMPOUNDS (1962) E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, J. Chromatography (1975) 113, 283-302). Además, los compuestos de la presente invención, es decir, los isómeros ópticamente puros, se pueden preparar a partir de la mezcla racémica por resolución biocatalítica enzimática. La resolución biocatalítica enzimática ya ha sido descrita con anterioridad (véanse p.ej. las patentes U.S. 5,057,427 y 5,077,217). Otros métodos de obtención de enantiómeros incluyen la síntesis estereoespecífica (véase p.ej. Li, A. J. y otros, Pharm. Sci. (1997) 86: 1073-1077).

Tal como se usa aquí, el término “sustancialmente libre de su estereoisómero (+)” significa que las composiciones contienen una proporción del isómero (-) de halofenato sustancialmente mayor que la del isómero (+). En una forma de ejecución preferida, el término “sustancialmente libre de su estereoisómero (+)” aquí utilizado significa que la composición lleva al menos 90% en peso del isómero (-) y 10% en peso o menos del isómero (+). En una forma de ejecución más preferida el término “sustancialmente libre de su estereoisómero (+)” aquí utilizado significa que la composición contiene al menos 99% en peso del isómero (-) y 1% en peso o menos del isómero (+). En la forma de ejecución con mayor preferencia, el término “sustancialmente libre de su estereoisómero (+)” significa que la composición contiene más del 99% en peso del isómero (-). Estos porcentajes están basados en la cantidad total de halofenato en la composición. Los términos “básicamente isómero (l) de halofenato ópticamente puro”, “básicamente halofenato (l) ópticamente puro”, “isómero (l) de halofenato ópticamente puro” y “halofenato (l) ópticamente puro” se refieren todos al isómero (-) y están incluidos en las cantidades arriba descritas. Además, los términos “básicamente isómero (d) de halofenato ópticamente puro”, “básicamente halofenato (d) ópticamente puro”, “isómero (d) de halofenato ópticamente puro” y “halofenato (d) ópticamente puro” se refieren todos al isómero (+) y están incluidos en las cantidades arriba descritas.

El término “exceso enantiomérico” o “ee” está relacionado con el término “pureza óptica”, pues ambas expresiones son medidas del mismo fenómeno. El valor de ee será un número de 0 a 100, siendo 0 racémico y 100 enantiómero individual puro. Un compuesto designado como 98% ópticamente puro se puede describir como 96% ee.

(3) Terapia combinada con principios activos adicionales

Las composiciones pueden formularse y administrarse igualmente como se detalla a continuación. “Formulación” se define como un preparado farmacéutico que contiene una mezcla de varios excipientes y componentes principales y ofrece una forma relativamente estable, conveniente y útil de un compuesto o fármaco. En la presente invención el significado del término “composición” incluye el de “formulación”. Los compuestos de la presente invención pueden usarse eficazmente solos o en combinación con uno o más principios activos adicionales, en función del tratamiento dirigido deseado (véase p.ej. Turner, N. y otros Prog. Drug Res. (1998) 51: 33-94; Haffner, S. Diabetes Care (1998) 21: 160-178; y DeFronzo, R. y otros (eds.), Diabetes Reviews (1997) Vol. 5 No. 4). Varios estudios han investigado los beneficios de terapias combinadas con agentes orales (véase p.ej. Mahler, R., J. Clin. Endocrinol. Metab. (1999) 84: 1165-71; United Kingdom Prospective Diabetes Study Group: UKPDS 28, Diabetes Care (1998) 21: 87-92; Bardin, C. W., (ed.), CURRENT THERAPY IN ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM, 6ª edición (Mosby - Year Book, Inc., St. Louis, MO 1997); Chiasson, J. y otros, Ann. Intern. Med. (1994) 121: 928-935; Coniff, R. y otros, Clin. Ther. (1997) 19: 16-26; Coniff, R. y otros, Am. J. Med. (1995) 98: 443-451; y Iwamoto, Y. y otros, Diabet. Med. (1996) 13 365-370; Kwiterovich, P. Am. J. Cardiol (1998) 82(12A): 3U-17U). Estos estudios indican que la modulación de la diabetes y la hiperlipidemia aún puede mejorarse añadiendo un segundo agente al régimen terapéutico. La terapia combinada incluye la administración de una formulación de monodosis farmacéutica que contiene un compuesto con la estructura general de la fórmula I (o de la fórmula II o III) y uno o más principios activos adicionales, así como la administración de un compuesto de la fórmula I (o de la fórmula II o III) y de cada principio activo en su propia formulación separada de dosis farmacéutica. Por ejemplo, al ser humano se le puede administrar un compuesto de fórmula I y un inhibidor de HMG-CoA reductasa juntos en una composición de monodosis oral, tal como una tableta o cápsula, o bien puede administrarse cada agente en formulaciones de dosis oral separadas. Cuando se usan formulaciones de dosis separadas, un compuesto de fórmula I y uno o más principios activos adicionales se pueden administrar prácticamente al mismo tiempo (es decir simultáneamente) o en momentos distintos (es decir, de manera sucesiva). Se entiende que la terapia combinada incluye todos estos regímenes.

Ejemplo de terapia combinada que modula (evita la aparición de los síntomas o complicaciones relacionadas) la aterosclerosis, administrando un compuesto de la fórmula I con uno o más de los siguientes principios activos: un agente antihiperlipidémico; un agente que eleve el HDL en plasma; un agente antihipercolesterolémico, tal como un inhibidor de la biosíntesis del colesterol, p.ej. un inhibidor de hidroximetilglutaril (HMG) CoA reductasa (llamados también estatinas, tales como lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina y atorvastatina), un inhibidor de HMG-CoA sintasa, un inhibidor de escualeno epoxidasa o un inhibidor de escualeno sintetasa (también conocido como inhibidor de escualeno sintasa); un inhibidor de acilcoenzima A colesterol aciltransferasa (ACAT) tal como melinamida; probucol; ácido nicotínico y sus sales y niacinamida; un inhibidor de la absorción de colesterol tal como β -sitosterol; una resina intercambiadora aniónica secuestrante de ácidos biliares tal como colestiramina, colestipol o dialquilaminodialquil-derivados de un dextrano reticulado; un inductor de receptores de LDL (lipoproteína de baja densidad); fibratos como clofibrato, bezafibrato, fenofibrato y gemfibrozilo; vitamina B₆ (también conocida como piridoxina) y sus sales farmacéuticamente aceptables, como la sal de HCl; vitamina B₁₂ (también conocida como cianocobalamina); vitamina B₃ (también conocida como ácido nicotínico y niacinamida, arriba citados); vitaminas antioxidantes como las vitaminas C y E y el beta-caroteno; un bloqueador-beta; un antagonista de angiotensina II; un inhibidor del enzima convertidor de angiotensina; un inhibidor de la agregación plaquetaria tal como los antagonistas de los receptores de fibrinógeno (p.ej. antagonistas del receptor de fibrinógeno glicoproteína IIb/IIIa) y aspirina. Como se ha observado arriba los compuestos de la fórmula I se pueden administrar en combinación con más de un agente adicional, por ejemplo una combinación de un compuesto de la fórmula I con un inhibidor de HMG-CoA reductasa (p.ej. lovastatina, simvastatina y pravastatina) y aspirina, o un compuesto de la fórmula I con un inhibidor de HMG-CoA reductasa y un bloqueador β .

- Otro ejemplo de terapia combinada puede verse en el tratamiento de la obesidad o de trastornos relacionados con la misma, en el cual los compuestos de la fórmula I se pueden utilizar eficazmente en combinación, por ejemplo, con fenilpropanolamina, fentermina, dietilpropiona, mazindol; fenfluramina, dexfenfluramina, fentiramina, agentes agonistas del receptor β_3 adrenérgico; sibutramina, inhibidores de lipasas gastrointestinales (como el orlistat) y leptinas. Para tratar la obesidad o trastornos relacionados con la misma por medio de combinaciones eficaces con los compuestos de la fórmula I también se pueden usar otros agentes, por ejemplo neuropéptido Y, enterostatina, coleciestoquinina, bombesina, amilina, receptores de histamina H_3 , receptores de dopamina D_2 , hormona estimulante de melanocitos, factor de liberación de corticotrofina, galanina y ácido gamma-amino butírico (GABA).
- Otro ejemplo más de terapia combinada puede verse en la modulación de la diabetes (o el tratamiento de la diabetes y sus síntomas, complicaciones y trastornos), en la cual pueden usarse eficazmente los compuestos de la fórmula I en combinación, por ejemplo, con sulfonilureas (tales como clorpropamida, tolbutamida, acetohexamida, tolazamida, gliburida, gliclazida, glinasa, glimepirida y glipizida), biguanidas (tales como metformina), tiazolidinadionas (tales como ciglitazona, pioglitazona, troglitazona y rosiglitazona); deshidroepiandrosterona (también denominada DHEA o su sulfato-éster conjugado, DHEA-SO₄); antigluco corticoides; inhibidores de TNF α ; inhibidores de α -glucosidasa (tales como acarbosa, miglitol y voglibosa), pramlintida (un análogo sintético de la hormona humana amilina), otros secretagogos de insulina (tales como repaglinida, gliquidona y nateglinida), insulina, así como los principios activos considerados anteriormente para tratar la aterosclerosis.
- Otro ejemplo de terapia combinada puede verse en la modulación de la hiperlipidemia (tratamiento de la misma y sus complicaciones), en la cual los compuestos de la fórmula I se pueden usar eficazmente en combinación, por ejemplo, con estatinas (tales como fluvastatina, lovastatina, pravastatina o simvastatina), resinas fijadoras de ácidos biliares (tales como colestipol o colestiramina), ácido nicotínico, probucol, beta-caroteno, vitamina E o vitamina C.
- Según la presente invención se puede utilizar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I (o de la fórmula II o III) para preparar una composición farmacéutica útil en el tratamiento de la hiperuricemia.

Además se puede emplear una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula I (o de la fórmula II o III) junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes seleccionados del grupo constituido por: un agente antihiperlipidémico; un agente que aumente el HDL en el plasma; un agente antihipercolesterolémico tal como un inhibidor de la biosíntesis del colesterol, por ejemplo un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un inhibidor de HMGCoA sintasa, un inhibidor de escualeno epoxidasa o un inhibidor de escualeno sintetasa (también denominado inhibidor de escualeno sintasa); un inhibidor de acilcoenzima A colesterol aciltransferasa; probucol; ácido nicotínico y sus sales; niacinamida; un inhibidor de la absorción de colesterol; una resina de intercambio aniónico secuestrante de ácidos biliares; un inductor de receptores de lipoproteína de baja densidad; clofibrato, fenofibrato y gemfibrozilo; vitamina B₆ y sus sales farmacéuticamente aceptables; vitamina B₁₂; una vitamina antioxidante; un bloqueador β ; un antagonista de angiotensina II; un inhibidor del enzima convertidor de angiotensina; un inhibidor de la agregación plaquetaria; un antagonista del receptor de fibrinógeno; aspirina; fentiraminas, agonistas del receptor andrenérgico β_3 ; sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la α -glucosidasa, otros secretagogos de insulina e insulina, en la preparación de una composición farmacéutica útil para los tratamientos arriba descritos.

(4) Formulaciones farmacéuticas y métodos de administración

Los compuestos de las fórmulas I, II y III se pueden facilitar o administrar a un mamífero, por ejemplo un paciente o sujeto humano, solos, en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o un precursor hidrolizable de los mismos o en forma de una composición farmacéutica en la que el compuesto va mezclado con vehículos o excipiente(s) adecuados en cantidad terapéuticamente eficaz. "Dosis terapéuticamente eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o alternativamente "dosis farmacológicamente aceptable" o "cantidad farmacológicamente aceptable" significa que habrá una cantidad suficiente del compuesto de la presente invención o de una combinación - como por ejemplo un compuesto de la presente invención esencialmente libre de su estereoisómero (+) y un vehículo farmacéuticamente aceptable - para lograr el resultado deseado, por ejemplo aliviar un síntoma o complicación de la diabetes de tipo 2.

Los compuestos de las fórmulas I, II y III empleados en los métodos de la presente invención se pueden incorporar a una variedad de formulaciones para administración terapéutica. En concreto los compuestos de la fórmula I (o de la fórmula II o III) se pueden formular como composiciones farmacéuticas, combinándolos con soportes o diluyentes apropiados farmacéuticamente aceptables en preparados de forma sólida, semisólida, líquida o gaseosa tales como tabletas, cápsulas, píldoras, polvos, granulados, grageas, geles, suspensiones, pomadas, soluciones, supositorios, inyecciones, inhaladores y aerosoles. De este modo los compuestos se pueden administrar a través de varias vías, incluyendo la oral, bucal, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, intratraqueal. Por otra parte el compuesto se puede administrar de manera local más que sistémica, mediante una formulación de liberación prolongada o retardada. Además los compuestos pueden administrarse en un liposoma.

Además, los compuestos de las fórmulas I, II y III se pueden formular con excipientes, diluyentes o vehículos comunes y pueden comprimirse en tabletas o formularse como elixires o disoluciones para administración oral adecuada, o administrarse por vías intramusculares o intravenosas. Los compuestos pueden administrarse por vía transdérmica y pueden formularse como formas de dosificación para liberación continua y similares.

Los compuestos de las fórmulas I, II y III se pueden administrar solos, combinados entre sí, o pueden emplearse en combinación con otros compuestos conocidos (citados anteriormente). En las formas de dosificación farmacéuticas los compuestos pueden administrarse como sales farmacéuticamente aceptables de los mismos que contienen los fragmentos hidrolizables. También pueden usarse solos o en combinación apropiada, incluso con otros compuestos farmacéuticamente activos.

En Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company (1985) Filadelfia, PA, 17^a ed.) se encuentran formulaciones adecuadas para usar en la presente invención. Asimismo, para una breve revisión de los métodos de administración de fármacos véase Langer, Science (1990) 249:1527-1533. Las composiciones farmacéuticas aquí descritas pueden fabricarse del modo conocido por los especialistas, es decir mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Los siguientes métodos y excipientes son solo ejemplos y de ningún modo limitativos.

Para preparados inyectables los compuestos pueden formularse disolviéndolos, suspendiéndolos o emulsionándolos en disolventes acuosos o no acuosos, tales como aceites vegetales u otros aceites similares, glicéridos de ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol, y, si se desea, con aditivos corrientes tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizadores y conservantes. Preferentemente, los compuestos de la presente invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como la solución de Hank, solución de Ringer o tampón salino fisiológico. En la formulación de administración transmucosal se utilizan penetrantes apropiados para la barrera que debe permearse. Dichos penetrantes son generalmente conocidos del estado técnico.

Para la administración oral, los compuestos de las fórmulas I, II o III pueden formularse fácilmente combinándolos con vehículos farmacéuticamente aceptables, bien conocidos del estado técnico. Estos vehículos permiten formular los compuestos en forma de tabletas, píldoras, grageas, cápsulas, emulsiones, suspensiones lipófilas e hidrófilas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones acuosas y similares de ingestión oral para el paciente tratado. Los preparados farmacéuticos de uso oral pueden obtenerse mezclando los compuestos con un excipiente sólido, opcionalmente moliendo la mezcla resultante, y procesando la mezcla granulada, después de añadir los compuestos auxiliares adecuados, si es preciso, para obtener núcleos de tabletas o grageas. Son excipientes adecuados, en particular, cargas como los azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manita o sorbita; preparados celulósicos como por ejemplo almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como la polivinilpirrolidona reticulada, agar, o ácido algínico o una sal del mismo, como el alginato de sodio.

Los núcleos de las grageas se recubren adecuadamente. Para ello pueden usarse disoluciones concentradas de azúcar, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, disoluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes convenientes. Pueden añadirse colorantes o pigmentos a los recubrimientos de las tabletas o grageas para identificarlas o para distinguir diferentes combinaciones de dosis de principios activos.

Las preparaciones farmacéuticas de uso oral incluyen cápsulas duras hechas de gelatina, así como cápsulas blandas herméticas elaboradas con gelatina y un plastificante como glicerina o sorbita. Las cápsulas duras pueden contener los ingredientes activos mezclados con cargas tales como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato magnésico y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas los compuestos activos pueden ir disueltos o suspendidos en líquidos adecuados tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. También pueden añadirse estabilizantes. Todas las formulaciones preparadas para la administración oral deben llevar las dosis respectivamente adecuadas.

Para la administración bucal las composiciones pueden tomar la forma de tabletas o pastillas formuladas del modo habitual.

Para la administración inhalativa los compuestos de la presente invención se suministran convenientemente en forma de un spray de aerosol en envases a presión o de un nebulizador, empleando un propelente adecuado, p.ej. diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado, o en forma de inhaladores de polvo seco libres de propelentes. En el caso de un aerosol presurizado la dosis unitaria se puede fijar mediante una válvula que descarga una cantidad medida. Para usar en un inhalador o insuflador se pueden formular cápsulas y cartuchos, p.ej. de gelatina, que contienen una mezcla en polvo del compuesto y una base adecuada en polvo, tal como lactosa o almidón.

Los compuestos se pueden formular para la administración parenteral por inyección, p.ej. en bolo o por infusión continua. Las formulaciones para inyectar pueden presentarse en forma de dosis unitaria, p.ej. en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden estar en forma de suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos y pueden contener aditivos de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de los principios activos en forma hidrosoluble. Asimismo se pueden preparar suspensiones oleosas de los compuestos activos, apropiadas para inyectar. Como disolventes o vehículos lipófilos son adecuados aceites grasos como el de sésamo o ésteres sintéticos de ácidos grasos como el oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones acuosas para inyectar pueden llevar sustancias que suben la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbita o dextrano. Asimismo, la suspensión puede contener opcionalmente estabilizantes apropiados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de disoluciones sumamente concentradas. Alternativamente el principio activo puede estar en forma de polvo para prepararlo con un vehículo adecuado, como p.ej. agua esterilizada libre de pirógenos, antes de su uso.

Los compuestos también pueden formularse en forma de composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, que contienen p.ej. bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao, carbowax, polietilenglicoles u otros glicéridos, todos los cuales se derriten a la temperatura corporal, aunque sean sólidos a la temperatura ambiente.

Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos también se pueden formular en forma de preparados de liberación continua. Estas formulaciones de actuación prolongada se pueden administrar por medio de implantes (por ejemplo subcutáneos o intramusculares) o por inyecciones intramusculares. Así, por ejemplo, los compuestos pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo como emulsión en un aceite aceptable) o con resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, como sal poco soluble.

Para administrar compuestos farmacéuticos hidrófobos se pueden usar otros sistemas. Los liposomas y emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos o excipientes para administrar fármacos hidrófobos. Según una forma de ejecución actualmente preferida se pueden emplear liposomas de circulación prolongada, es decir sigilosos. Estos liposomas se describen de manera general en Woodle y otros, patente U.S. nº 5,013,556. Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse por liberación controlada y/o dispositivos de administración tales como los descritos en las patentes U.S. nº 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123, y 4,008,719.

También pueden usarse ciertos disolventes orgánicos tales como el dimetilsulfóxido (DMSO), aunque normalmente a costa de una mayor toxicidad. Además los compuestos se pueden administrar utilizando un sistema de liberación continua, tal como matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han acreditado varios tipos de materiales de liberación continua, que son muy conocidos por los especialistas. En función de su naturaleza química las cápsulas de liberación continua pueden liberar los compuestos durante un periodo de tiempo que va desde unas cuantas horas hasta más de 100 días.

Las composiciones farmacéuticas también pueden contener vehículos o excipientes adecuados en fase sólida o gelatinosa. Como ejemplos de tales vehículos o excipientes cabe citar, sin limitarse a ellos, carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para usar en la presente invención incluyen aquellas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de ingredientes activos. La cantidad de composición administrada dependerá naturalmente del sujeto en tratamiento, de su peso, de la gravedad de la afección, de la forma de administración y del criterio del médico prescriptor. Los especialistas tienen buena capacidad para determinar la cantidad eficaz, especialmente en vista de la descripción detallada que aquí se ofrece.

La dosis terapéuticamente eficaz de cualquier compuesto utilizado en el método de la presente invención se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular o de modelos animales.

Asimismo la toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos aquí descritos se pueden determinar en cultivos celulares o en animales experimentales mediante procedimientos farmacéuticos normalizados, p.ej. calculando la DL_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz para el 50% de la población). La relación entre las dosis de efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico y se puede expresar como el cociente entre DL_{50} y DE_{50} . Se prefieren los compuestos que presentan índices terapéuticos elevados. Los datos obtenidos a partir de estos ensayos de cultivo celular y estudios con animales pueden utilizarse para formular un intervalo de dosificación que no sea tóxico para uso humano. La dosis de tales compuestos está preferiblemente comprendida en un intervalo de concentraciones circulantes que incluye la DE_{50} con toxicidad baja o nula. La dosis puede variar dentro de este intervalo, dependiendo de la forma farmacéutica empleada y de la vía de administración utilizada. Cada médico puede elegir la formulación exacta, la vía de administración y la dosis en función del estado del paciente. (Véase p.ej. Finl y otros 1975 en: The Pharmacological Basis of Therapeutics, cap. 1).

La cantidad de compuesto activo combinable con un material soporte para producir una monodosis variará en función de la enfermedad tratada, de la especie de mamífero, y del modo concreto de administración. Sin embargo, como norma general, las dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden contener preferiblemente, por ejemplo, entre 100 mg y 3000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida está entre 500 y 1500 mg, con mayor preferencia entre 500 y 1000 mg. Estas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día, por ejemplo 2, 3, 4, 5 o 6 veces diarias, pero preferiblemente 1 o 2 veces diarias, de manera que la dosis

diaria total para un adulto de 70 kg está comprendida en el intervalo de 0,1 a 250 mg por kg de peso del sujeto por administración. Una dosis preferida es de 5 a 250 mg por kg de peso del sujeto por administración y una terapia de este tipo puede prolongarse durante varias semanas o meses y, en algunos casos, años. Sin embargo se entenderá que el nivel de dosificación específico para cualquier paciente en particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del individuo tratado, el momento y la vía de administración, la tasa de excreción, la administración anterior de otros fármacos y la gravedad de la enfermedad concreta objeto de la terapia, tal como entienden los especialistas.

Una dosis típica puede ser una tableta de unos 10 a 1500 mg tomada una o varias veces al día o una cápsula o tableta de liberación progresiva que se toma una vez al día y lleva una cantidad proporcionalmente superior de ingrediente activo. El efecto de liberación progresiva se puede lograr con cápsulas hechas de un material que se disuelve a valores de pH diferentes, con cápsulas que liberan lentamente su contenido por presión osmótica, o por cualquier otro medio conocido de liberación controlada.

En algunos casos, evidentes para los especialistas, puede ser preciso usar dosis fuera de estos intervalos. Además debe tenerse en cuenta que el médico clínico o tratante sabrá cómo y cuándo interrumpir, ajustar o finalizar la terapia en función de la respuesta individual del paciente.

(5) Grupos protectores

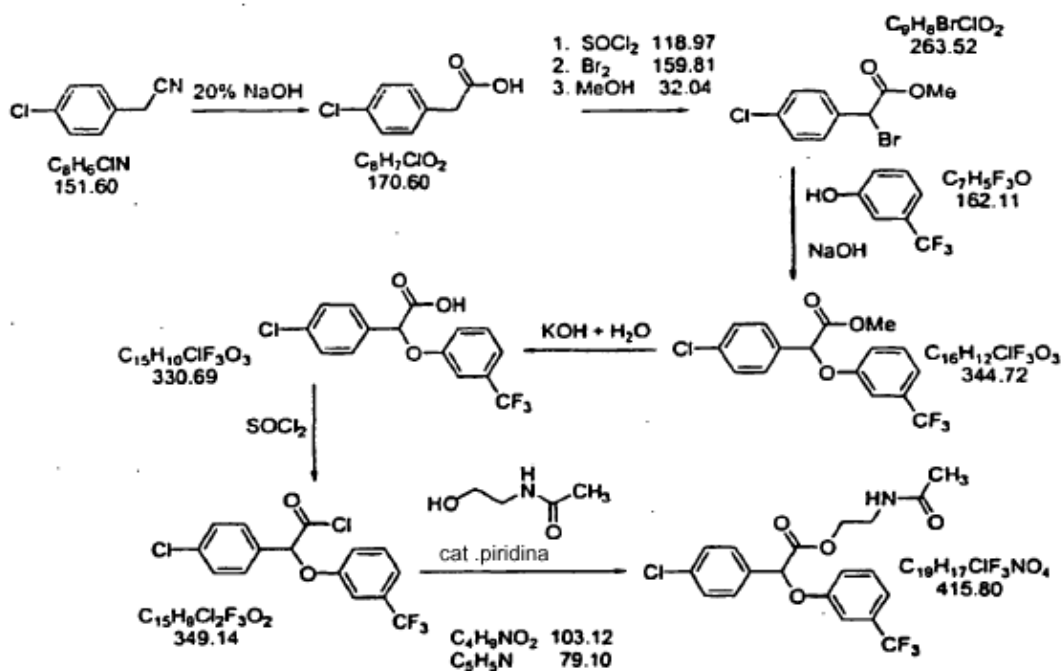
Ciertos compuestos que tienen la estructura general de las fórmulas I y II pueden requerir el empleo de grupos protectores para poder transformarse satisfactoriamente en la estructura deseada. Los grupos protectores pueden elegirse por referencia a Greene, T. W., y otros, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Inc., 1991. Los grupos bloqueantes se eliminan con facilidad, es decir, se pueden separar, si es preciso, empleando procedimientos que no produzcan ninguna otra escisión o ruptura de las restantes partes de la molécula. Dichos procedimientos comprenden la hidrólisis química y enzimática, el tratamiento con agentes químicos reductores u oxidantes en condiciones suaves, el tratamiento con ión fluoruro, el tratamiento con un catalizador de metal de transición y un nucleófilo y la hidrogenación catalítica.

Como ejemplos adecuados de grupos protectores de hidroxilo cabe citar: trimetilsililo, trietilsililo, o-nitrobenciloxi-carbonilo, p-nitrobenciloxi-carbonilo, t-butildifenilsililo, t-butildimetilsililo, benciloxi-carbonilo, t-butiloxi-carbonilo, 2,2,2-tricloroetiloxi-carbonilo y aliloxi-carbonilo. Como ejemplos adecuados de grupos protectores de carboxilo cabe citar: benzhidrilo, o-nitrobencilo, p-nitrobencilo, 2-naftilmetilo, alilo, 2-cloroalilo, bencilo, 2,2,2-tricloroetilo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, 2-(trimetilsilil)etilo, fenacilo, p-metoxibencilo, acetono, p-metoxifenilo, 4-piridilmetilo y t-butilo.

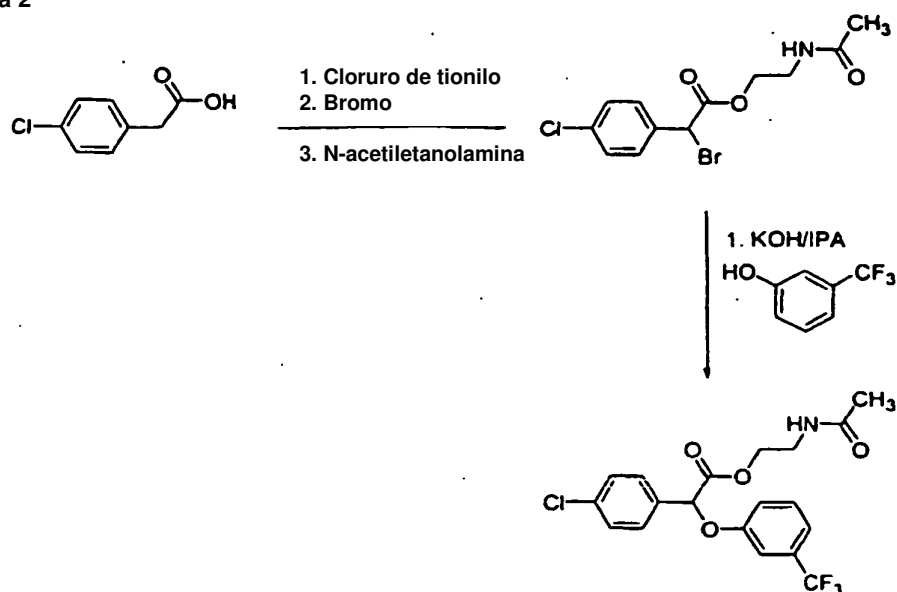
(6) Proceso

Los procesos para elaborar los compuestos están representados de forma general en los esquemas 1 y 2 (y se describen con mayor detalle en los ejemplos):

Esquema 1



Esquema 2



5

Según el esquema 1, un fenil-acetonitrilo sustituido se transforma en un ácido fenilacético sustituido. El ácido fenilacético sustituido se convierte en un derivado de ácido activado (p.ej. en un cloruro de ácido) y luego se halogena en el carbono alfa y se esterifica con un alcohol. El éster halogenado se trata con un fenol sustituido (p.ej. 3-trifluorometilfenol), dando un aril-éter que se hidroliza formando un derivado de ácido carboxílico. El derivado de ácido se convierte en un derivado de ácido activado y luego se trata con un nucleófilo (p.ej. N-acetiletanolamina), para dar el producto deseado.

10

15

Según el esquema 2, un ácido fenilacético sustituido se transforma en un derivado de ácido activado (p.ej. en un cloruro de ácido) y después se halogena en el carbono alfa. La porción ácida activada de la molécula se hace reaccionar con un nucleófilo (p.ej. N-acetiletanolamina) para dar un ácido protegido. El ácido protegido halogenado se trata con un fenol sustituido (p.ej. 2-trifluorometilfenol), dando el producto deseado.

20

Los estereoisómeros de los compuestos se pueden preparar utilizando reactantes o reactivos o catalizadores en su forma enantiómera simple, siempre que el proceso lo permita, o resolviendo la mezcla de estereoisómeros mediante métodos convencionales tratados anteriormente y en los ejemplos. Algunos de los métodos preferidos incluyen el empleo de resolución microbiana, separando las sales diastereoisómeras resultantes con ácidos quirales o bases quirales, y la cromatografía con soportes quirales.

(7) Kits

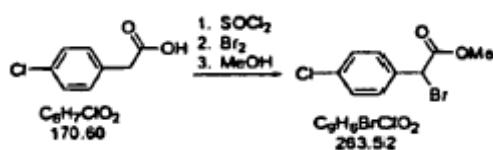
Asimismo, la presente invención ofrece kits con dosis unitarias de los compuestos de la fórmula I, II o III en dosis orales o inyectables. Junto a los envases que contienen la dosis unitarias habrá un prospecto informativo que describe el empleo y los beneficios esperados de los fármacos en el alivio de los síntomas y/o complicaciones relacionados con la diabetes de tipo 2 y también como la alivio de hiperlipidemia e hiperuricemia. Los compuestos y las dosis unitarias preferentes son los que se han descrito aquí anteriormente.

EJEMPLOS

Los compuestos de la fórmula I, II o III se pueden preparar fácilmente empleando el proceso planteado arriba en el esquema 1 y en los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

Este ejemplo se refiere a la preparación de bromo-(4-clorofenil)-acetato de metilo.

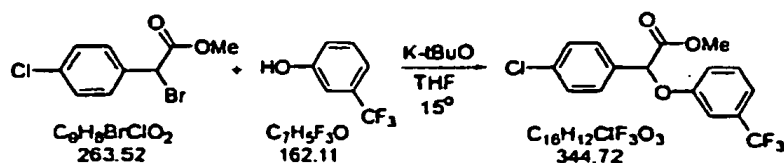


El compuesto inicial que figura en el esquema 1, es decir el ácido 4-clorofenilacético, se puede adquirir fácilmente de varias fuentes comerciales (p.ej. Aldrich y Fluka).

Un reactor Morton de 5 l provisto de agitador magnético, control de temperatura del recipiente y embudo dosificador se aireó a través de un lavador de gas y se cargó con ácido p-clorofenilacético (720 g, 4,2 moles) y SOCl₂ (390 ml, 630 g, 5,3 moles). La reacción, se agitó, se calentó y se mantuvo a 55 ± 5°C durante 1 hora. Entonces se añadió bromo (220 ml, 670 g, 5,3 moles) en 20 minutos y se agitó a 55 ± 5°C durante 16 horas. Se subió la temperatura hasta 80°C durante 7 horas y después se enfrió hasta 9°C en un baño de agua-hielo. Luego se añadió metanol cuidadosamente (2,0 l, 1,6 kg, 49,4 moles). Se separó el disolvente para obtener 2 líquidos que pesaban 1,28 kg. Éstos se disolvieron en una mezcla de 0,84 l de agua y 2,1 l de éter y se separaron. La fase orgánica se lavó una vez con 0,78 l de NaCl acuoso al 25% (p:p) y se secó sobre 0,13 kg de MgSO₄, se filtró a través de un papel de filtro Whatman n° 1 y se separó del disolvente para obtener 0,985 kg de líquido anaranjado. La RMN protónica mostró que era 80% de producto y 19% de éster no bromado. La HPLC mostró que era 82% de producto y 18% de éster no bromado. La HPLC se efectuó a 30°C en una columna Zorbax SB-C8 que medía 250 x 4,6 mm y tenía un tamaño de partícula de 5 µ. La fase móvil fue 60:40 (v:v) de acetonitrilo : H₃PO₄ al 0,1% a 1,5 ml/min. La detección se realizó a 210 nm. La muestra inyectada de 1 µl se disolvió en acetonitrilo a una concentración de 10 mg/ml. El tiempo de retención del producto fue de 5,0 min. y el del éster no bromado fue de 3,8 min. Este producto crudo se purificó por destilación al vacío para obtener el producto puro al 96% con un rendimiento del 84%. La RMN protónica (CDCl₃, 300 MHz) del producto mostró desplazamientos a 3,79 (s, 3H), 5,32 (s, 1H) y 7,20-7,55 (m, 4H) ppm.

EJEMPLO 2

Este ejemplo se refiere a la preparación de 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato de metilo.

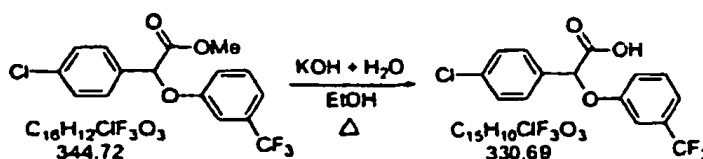


Esta etapa fue análoga a la misma etapa del documento U.S. 3,517,050 con una excepción, se empleó t-butoxido potásico en lugar de metóxido sódico para evitar la producción del correspondiente éter metílico. Un reactor Morton de 5 l provisto de un agitador superior, detector de la temperatura del recipiente y embudo dosificador se cargó bajo atmósfera de nitrógeno con bromo-(4-clorofenil)-acetato de metilo (830 g, 3,0 moles) y THF (600 ml). El reactor se enfrió hasta 14 ± 3°C en un baño de agua-hielo y se añadió una disolución enfriada análogamente de trifluorometil-m-cresol (530 g, 3,3 moles) en t-butoxido potásico 1,0 M en THF (3,1 l, 3,1 moles). La reacción fue exotérmica, con un aumento típico de la temperatura por encima de 25°C, se controló la adición para mantener una temperatura de 15 ± 2°C y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La HPLC se efectuó a 30°C en una columna Zorbax SB-C8 que medía 250 x 4,6 mm y tenía un tamaño de partícula de 5 µ. La fase móvil fue 60:40 (v:v) de acetonitrilo : H₃PO₄ al 0,1% a 1,5 ml/min. La detección se realizó a 210 nm. La muestra inyectada de 1 µl se disolvió en acetonitrilo a una concentración de 10 mg/ml. El tiempo de retención del producto fue de 9,6 min., el éster inicial se

eluyó a los 5,0 min., el fenol a los 3,0 min y el éster no bromado a los 3,8 min. Se separó el disolvente utilizando un rotavapor para obtener un lodo amarillo que se disolvió en una mezcla de 4,0 l de agua y 12,0 l de éter. Se separó la mezcla y la fase orgánica se lavó una vez con 1,6 l de NaOH acuoso al 5% (p:p), luego con 1,6 l de agua y por último con 1,6 l de NaCl acuoso al 25% (p:p). La fase orgánica se secó sobre 0,32 kg de MgSO₄ y se filtró a través de un papel de filtro Whatman n° 1. Se separó el disolvente para obtener 1,0 kg de cristales blanquecinos húmedos, que se recrystalizaron en el rotavapor disolviéndolos en 1,0 l de metilciclohexano a 75°C y enfriándolos luego hasta 20°C. Los cristales se filtraron a través de un papel de filtro Whatman n° 1 y se lavaron con tres porciones de 0,25 l de metilciclohexano frío (15°C). El producto húmedo (0,97 kg) se secó durante la noche para obtener 0,81 kg de producto puro al 98%, que corresponde a un rendimiento del 79%. La RMN protónica (CDCl₃, 300 MHz) del producto mostró desplazamientos a 3,75 (s, 3H), 5,63 (s, 1H) y 7,05-7,55 (m, 8H).

EJEMPLO 3

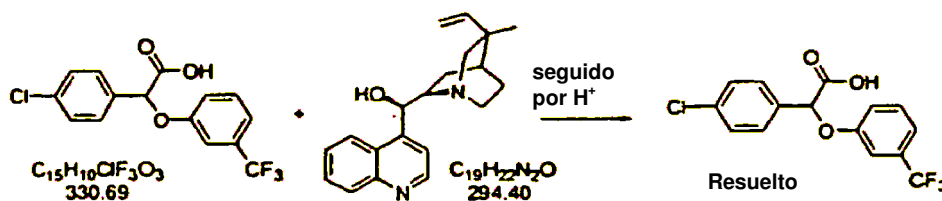
Este ejemplo se refiere a la preparación de ácido 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético.



Un reactor Morton de 12 l con agitador magnético, controlador de la temperatura del recipiente y condensador de reflujo se cargó bajo atmósfera de nitrógeno con 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxil)-acetato de metilo (810 g, 2,3 moles) y etanol absoluto (5,8 l) y se calentó en agitación hasta 57°C para disolver el sólido. Se añadió una disolución de KOH (520 g, 9,3 moles) en 0,98 l de agua. La disolución se calentó a reflujo durante 30 minutos y el disolvente se separó en un rotavapor para obtener 2,03 kg de una mezcla de dos líquidos casi incoloros, que se disolvieron en agua (16 l) y se trataron con 16 g de Norit neutro, luego se filtraron a través de una pastilla de tierra de infusorios retenida sobre papel de filtro Whatman n° 1. El pH del filtrado se rebajó desde un intervalo inicial de 13 hasta un intervalo de 1 a 2, añadiendo un total de 2,75 l de HCl 3 M (8,25 moles). Tras la adición de los primeros 2,30 l de ácido se formó un sólido muy pegajoso y en este momento se añadió éter (7 l). Se separaron las dos fases y la fase orgánica se secó sobre MgSO₄ (230 g) y se filtró a través de un papel de filtro Whatman n° 1. Luego se separó el disolvente para obtener 0,85 kg de jarabe incoloro como el agua. Después se recrystalizó el material en el rotavapor añadiendo metilciclohexano (800 ml) y enfriando hasta 18°C con rotación lenta. Luego se bajó la temperatura hasta 5°C, los cristales se filtraron y se lavaron 5 veces con porciones de 0,10 l de metilciclohexano frío (0°C) para obtener 0,59 kg de cristales húmedos. Los cristales húmedos se secaron para obtener 0,48 kg (62% de rendimiento) de producto sin ácido p-clorofenilacético detectable en la RMN protónica. La RMN protónica del producto (CDCl₃, 300 MHz) mostró desplazamientos en 5,65 (s, 1H), 7,02-7,58 (m, 8H) y 10,6 (s, 1H).

EJEMPLO 4

Este ejemplo se refiere a la preparación de los enantiómeros resueltos del ácido 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético.



Un reactor Morton de 12 l abierto por encima y provisto de agitador superior se cargó con ácido 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético (350 g, 1,06 moles) e isopropanol (4,0 l) y se calentó hasta 65° ± 3°C. Se añadió una suspensión de (-) cinchonidina (300 g, 1,02 moles) en isopropanol (2,0 l), enjuagando todo el sólido del interior del reactor con 0,8 l más de isopropanol. La temperatura cayó de 65° a 56°C, al final se formó una disolución naranja transparente y la mezcla se mantuvo a 55° ± 5°C durante 2 horas. Se recogieron cristales finos por filtración a través de papel de filtro Whatman n° 1, lavando una vez con 0,7 l de isopropanol caliente (55°C). Los cristales se secaron durante 16 horas a temperatura ambiente en una estufa de vacío de 12,6 l con un flujo de 5 lpm de nitrógeno. El sólido seco pesó 0,37 kg y tenía un exceso enantiomérico (ee) de 80% del enantiómero (+). El exceso enantiomérico se determinó por HPLC empleando una columna R,R-WhelkO-1 de 250 x 4,6 mm a la temperatura ambiente. Se inyectaron 20 µl de muestras disueltas en etanol a 2 mg/ml. La columna se eluyó con hexano:isopropanol:ácido acético 95:5:0,4 a un flujo de 1 ml/min. La detección se efectuó a 210 nm. El enantiómero (+) se eluyó a los 7 - 8 minutos y el enantiómero (-) a los 11 - 13 minutos. De las aguas madres salió casi inmediatamente una segunda tanda, que se filtró, lavó, y secó para dar 0,06 kg de sal que tenía un 90% de ee del enantiómero (-). Análogamente se obtuvo una tercera, cuarta y quinta tandas que pesaban 0,03 kg, 0,03 kg y 0,7 kg, respectivamente; con excesos

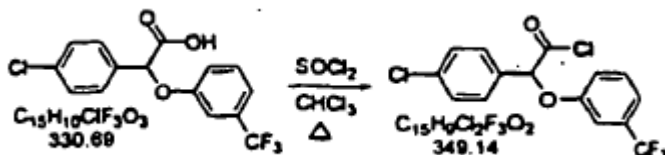
de enantiómero (-) del 88%, 89% y 92%, respectivamente.

La sal (+) cruda (320 g) se recrystalizó a partir de una mezcla de etanol (5,9 l) y metanol (1,2 l). La mezcla se calentó con agitación superior para disolverla, se enfrió hasta temperatura ambiente durante 16 horas, se filtró y se lavó dos veces con 0,20 l de 5:1 (v:v) etanol:metanol. Se secaron los cristales para obtener 0,24 kg del enantiómero (+), que tenía un ee del 97%, lo cual corresponde a un 80% de recuperación de este isómero. La sal resuelta se suspendió en una mezcla de éter (6,5 l) y agua (4,0 l) con agitación superior. El pH se redujo hasta 0-1 con una disolución concentrada de H₂SO₄ (0,13 l) en agua (2,5 l), midiendo el pH con tiras indicadoras. Se separaron las fases y la fase orgánica se lavó dos veces con porciones de 6,5 l de agua. Se agregó éter (1,9 l) y la fase orgánica se lavó una vez más con 6,5 l de agua. Tras la separación final, se añadió 0,1 l de NaCl acuoso al 25% (p:p) para eliminar cualquier ligera emulsión. El producto se secó sobre 0,19 kg de MgSO₄, se filtró y se eliminó el disolvente para dar 0,13 Kg de jarabe incoloro como el agua que solidifica al enfriarse, lo cual corresponde a una recuperación del 97% de producto que dio un 95% de ee del enantiómero (+). $[\alpha]_D^{25} +5,814^c$ (c.=0,069 en alcohol metílico).

La sal (-) cruda combinada (200 g) se recrystalizó en isopropanol (3,1 l). La mezcla se calentó para disolver casi todo el sólido y se filtró rápidamente para eliminar los sólidos insolubles. Después la muestra se enfrió agitando a la temperatura ambiente durante 16 horas, se filtró, se lavó y se secó para obtener 0,16 kg del enantiómero (-), que dio un ee del 97%, lo cual corresponde a una recuperación del 49% de este isómero. El enantiómero (-) del ácido se aisló de la misma manera arriba descrita para el ácido (+). La sal resuelta se suspendió en éter y agua, se redujo el pH con H₂SO₄ concentrado y se extrajo el producto en la fase orgánica.

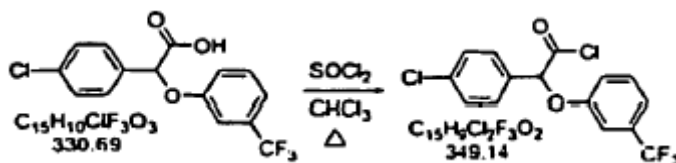
EXAMPLE 5

A. Preparación de cloruro de (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetilo.



Un matraz evaporar de 2 l con agitador magnético, adaptador de Claisen, termómetro de recipiente y condensador de reflujo dirigido hacia un lavador de gas se cargó con ácido (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético (143 g, 0,42 moles en base a 97% de pureza) y CHCl₃ (170 ml) y se calentó a ebullición para disolverlo. Se añadió SOCl₂ (38 ml, 62,1 g, 0,52 moles). La mezcla se calentó hasta reflujo (68°C finales) durante 4,5 horas y luego se separó de los compuestos volátiles para obtener 151 g de líquido turbio amarillo (103% de rendimiento aparente). El material se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

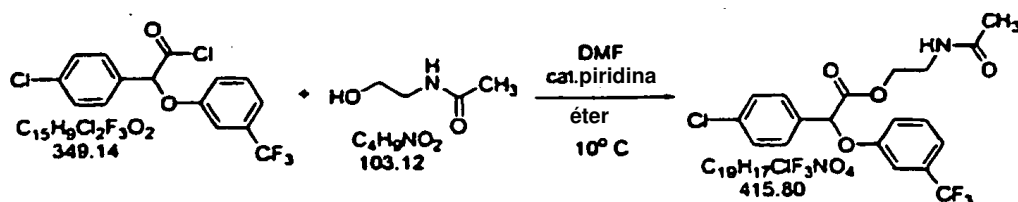
B. Preparación de cloruro de (+) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetilo.



Un matraz evaporar de 3 l con agitador magnético, adaptador de Claisen, termómetro de recipiente y condensador de reflujo dirigido hacia un lavador de gas se cargó con ácido (+) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético (131 g, 0,37 moles) y CHCl₃ (152 ml) y se calentó a ebullición para disolverlo. Se añadió SOCl₂ (35 ml, 56,5 g, 0,48 moles). La mezcla se calentó hasta reflujo (70°C finales) durante 4 horas y luego se separó de los compuestos volátiles para obtener 139 g de líquido. El material se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

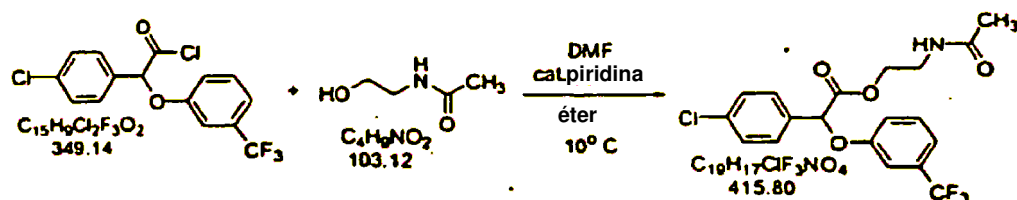
EJEMPLO 6

A. Preparación de (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxil)-acetato de 2-acetamidoetilo.



Un matraz de fondo redondo de 3 l con agitador magnético y termómetro del recipiente, en atmósfera de nitrógeno y en un baño de agua con hielo, se cargó con DMF (240 ml), piridina (37 ml, 36 g, 0,46 moles) y N-acetoetanolamina (39 ml, 43 g, 0,42 moles). La mezcla se enfrió hasta 0° - 5°C y se añadió una disolución de cloruro de (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetilo crudo (151 g, 0,42 moles en base a un rendimiento del 100% de la etapa anterior) en éter (170 ml) durante un periodo de 40 minutos para mantener la temperatura del recipiente por debajo de 13°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y se disolvió añadiendo agua (960 ml) y luego de acetato de etilo (630 ml). La adición de agua produjo una reacción exotérmica aumentando la temperatura desde 24° hasta 34°C. La adición de acetato de etilo hizo caer la temperatura hasta 30°C. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo una vez con acetato de etilo (125 ml). Las fases orgánicas combinadas se extrajeron una vez con NaHCO₃ acuoso al 7% (p:p) (125 ml) y cinco veces con porciones de 60 ml de agua y después dos veces con porciones de 60 ml de NaCl acuoso al 25% (p:p). El producto se secó con MgSO₄ (42 g) y se filtró a través de papel de filtro Whatman n° 1. El disolvente se separó en un rotavapor para obtener 160 g de un jarabe amarillo, lo cual supone un rendimiento del 80% según la RMN protónica, que indica un 87% de producto, 8% de AcOEt, 4% de amida no bromada y 1% de DMF. Este jarabe se disolvió en MTBE (225 ml) a temperatura ambiente y se añadieron hexanos al 85% muy fríos (-15°C) (400 ml) agitando. Se formaron dos líquidos, después cristales y luego la mezcla formó un sólido. La masa sólida se disgregó sobre un embudo Buchner con papel Whatman n° 1, se compactó y se lavó tres veces con porciones de 100 ml de MTBE:hexanos 1:1 (v:v) para obtener 312 g de producto húmedo que se secó dando 127 g, correspondientes al 73% de rendimiento.

20 B. Preparación de (+) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxil)-acetato de 2-acetamidoetilo



Un matraz de fondo redondo de 3 l con agitador magnético y termómetro del recipiente, en atmósfera de nitrógeno y en un baño de agua con hielo, se cargó con DMF (365 ml), piridina (33 ml, 32,3 g, 0,41 moles) y N-acetoetanolamina (34 ml, 38,1 g, 0,37 moles). La mezcla se enfrió hasta 0° - 5°C y se añadió una disolución de cloruro de (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetilo crudo (139 g, 0,37 moles en base a un rendimiento del 100% de la etapa anterior) en éter (155 ml) durante un periodo de 25 minutos para mantener la temperatura del recipiente por debajo de 13°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 horas y se disolvió añadiendo agua (850 ml) y luego de acetato de etilo (550 ml). La adición de agua produjo una reacción exotérmica aumentando la temperatura desde 24° hasta 34°C. La adición de acetato de etilo hizo caer la temperatura hasta 30°C. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo una vez con acetato de etilo (110 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron dos veces con porciones de 55 ml de agua y luego cinco veces con porciones de 55 ml de NaCl acuoso al 25% (p:p), se secaron sobre 30 g de MgSO₄ y se filtraron a través de papel de filtro Whatman n° 1. El disolvente se separó en un rotavapor para obtener 168 g de un líquido amarillo, lo cual supone un rendimiento del 86% según la RMN protónica, que indica un 79% de producto, 9% de AcOEt, 8% de amida no bromada y 4% de DMF. El producto se cristalizó en un vaso de precipitados de 800 ml disolviéndolo en MTBE (200 ml) a temperatura ambiente, enfriando a -15°C durante 1,4 horas, añadiendo 200 ml de hexanos al 85% y después helando durante 1 hora. La masa sólida se disgregó sobre un embudo Buchner con papel Whatman n° 1, se compactó y se lavó una vez con 100 ml de MTBE:hexanos 1:1 (v:v) para obtener 201 g de producto húmedo. El producto se secó en corriente de nitrógeno y se trituró con hexanos al 85% (700 ml) usando un agitador superior. El material se filtró y se secó para obtener 87 g de producto. $[\alpha]_D^{+2.769}$ (c.=0,048 en alcohol metílico). $[\alpha]_D^{-2.716}$ (c.=0,049 en alcohol metílico). También se analizaron los enantiómeros (+) y (-) por HPLC utilizando una columna R,R-WhelkO-1 de 250 x 4,6 mm a temperatura ambiente. Se inyectaron 20 µl de muestras disueltas en etanol a 2 mg/ml. La columna se eluyó con isopropanol:hexano 60:40 a un flujo de 1 ml/min. La detección se efectuó a 210 nm. El enantiómero (+) se eluyó a los 5,0 - 5,2 minutos y el enantiómero (-) a los 5,7 - 5,9 minutos.

EJEMPLO 7

Este ejemplo se refiere a la inhibición del citocromo P450 2C9 (CYP2C9) por los compuestos.

Se ensayó la actividad de hidroxilación de la tolbutamida (C¹⁴-tolbutamida 100 µM; NADPH 1 mM) en microsomas de hígado humano mezclados (0,6 mg de proteína/ml) durante 60 minutos a 37°C, con y sin los compuestos de ensayo. Se ensayó ácido halofénico racémico, ácido (-) halofénico y ácido (+) halofénico (0,25 µM hasta 40 µM). Tal como refleja la figura 1, el ácido halofénico racémico inhibió la hidroxilación de la tolbutamida mediada por CYP2C9 en los microsomas de hígado humano con una CI₅₀ aparente de 0,45 µM. Se observó una diferencia sustancial en la capacidad de los enantiómeros del ácido halofénico para inhibir el CYP2C9. El ácido (+) halofénico tuvo una CI₅₀ aparente de 0,22 µM, mientras que el ácido (-) halofénico fue casi 20 veces menos potente, con una CI₅₀ aparente de 3,6 µM.

EJEMPLO 8

Este ejemplo se refiere al efecto reductor de glucosa de los compuestos con el tiempo.

5 A. Material y métodos

Se compraron ratones C57BL/6J ob/ob machos de 9-10 semanas de edad de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). Los animales se alojaron (4-5 ratones/jaula) en condiciones normales de laboratorio a 22°C y 50% de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida Purina para roedores y agua a voluntad. Antes del tratamiento se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se usaron los ratones cuyos niveles de glucosa en sangre sin ayunar estaban comprendidos entre 300 y 500 mg/dl. Cada grupo de tratamiento estaba formado por 10 ratones distribuidos de forma que los niveles medios de glucosa fuesen equivalentes en cada grupo al inicio del estudio. Los ratones recibieron por vía oral mediante sonda nasogástrica una sola dosis de vehículo, de halofenato racémico (250 mg/kg), de (-) halofenato (250 mg/kg) o de (+) halofenato (250 mg/kg). Todos los compuestos fueron administrados en una formulación líquida que contenía dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), Tween 80 al 1% (v/v) y metilcelulosa al 2,7% (p/v). El volumen administrado por sonda fue de 10 ml/kg. Se extrajeron muestras de sangre a las 1,5, 3, 4,5, 6, 7,5, 9 y 24 horas después de la dosificación y se analizó el contenido de glucosa en plasma. Se determinaron las concentraciones de glucosa en plasma colorimétricamente, utilizando el método de glucosa-oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significancia entre grupos (comparando los grupos tratados con fármaco con los grupos tratados con vehículo o entre grupos tratados con fármaco) mediante la prueba t de Student no pareada.

B. Resultados

Como ilustra la figura 2 el halofenato racémico rebajó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma en la mayoría de los puntos de tiempo con un máximo de actividad a las 9 horas. El (-) halofenato reveló una reducción de la glucosa en plasma tan pronto como a las 1,5 horas y alcanzó su actividad máxima a las 3 horas. Las concentraciones de glucosa en el plasma se mantuvieron bajas hasta las 24 horas. El (+) halofenato no manifestó ninguna actividad significativa hasta las 4,5 horas y su actividad máxima fue a las 7,5 horas. La glucosa en plasma comenzó a recuperarse después. Hubo diferencias significativas entre los enantiómeros (-) y (+) de halofenato en los puntos correspondientes a las 3 y 24 horas. La actividad del (-) halofenato se inició más rápidamente y se mantuvo durante más tiempo.

EJEMPLO DE REFERENCIA 9

Este ejemplo se refiere a la actividad de los compuestos en la reducción de la glucosa.

A. Materiales y métodos

Se compraron ratones C57BL/6J ob/ob macho de 8-9 semanas de edad de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). Los animales se alojaron (4-5 ratones/jaula) en condiciones normales de laboratorio a 22°C y 50% de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida Purina para roedores y agua a voluntad. Antes del tratamiento se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se usaron los ratones cuyos niveles de glucosa en sangre sin ayunar estaban comprendidos entre 300 y 520 mg/dl. Cada grupo de tratamiento estaba formado por 10 ratones distribuidos de forma que los niveles medios de glucosa fuesen equivalentes en cada grupo al inicio del estudio. Los ratones recibieron por vía oral mediante sonda nasogástrica una dosis diaria de vehículo, de halofenato racémico (250 mg/kg), de (-) halofenato (125 y 250 mg/kg) o de (+) halofenato (125 y 250 mg/kg) durante 5 días. El halofenato racémico se administró en metilcelulosa al 2,7% (p/v) y tanto el enantiómero (-) como el enantiómero (+) en una formulación líquida que contenía dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), Tween 80 al 1% (v/v) y metilcelulosa al 2,7% (p/v). El volumen administrado por sonda fue de 10 ml/kg. Se extrajeron muestras de sangre a las 3, 6, 27, 30 y 120 horas después de la primera dosis y se analizó el contenido de glucosa e insulina en plasma. Los animales se mantuvieron en ayunas por la noche (14 horas) antes de tomar la muestra de las 120 horas. Las concentraciones de glucosa en plasma se determinaron colorimétricamente, utilizando el método de glucosa-oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.). Las concentraciones de insulina en plasma se determinaron con el kit Rat Insulin RIA de Linco Research Inc. (St. Charles, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significancia entre grupos (comparando los grupos tratados con fármaco con los grupos tratados con vehículo) mediante la prueba t de Student no pareada.

B. Resultados

Como se ilustra la figura 3 el (-) halofenato rebajó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6, 27 y 30 horas. El (-) halofenato redujo significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6, 27 y 30 horas con ambos niveles de dosis. La dosis alta (250 mg/kg) también fue activa a las 3 horas. El (+) halofenato a 125 mg/kg disminuyó la glucosa en plasma a las 6 y 27 horas, mientras que a 250 mg/kg se observaron menores concentraciones de glucosa en plasma a las 3, 6, 27 y 30 horas. Los niveles de insulina en plasma se muestran en la figura 4. El halofenato racémico redujo notablemente la insulina a las 6 y 27 horas. En el grupo del (-) halofenato las insulinas en plasma disminuyeron significativamente a las 27 horas con ambas dosis y también significativamente a las 30 horas en los animales tratados con 250 mg/kg/día. El (+) halofenato rebajó significativamente la insulina a

las 27 y 30 horas con ambas dosis. Con 125 mg/kg/día también se observó una reducción significativa a las 6 horas. Después de un ayuno nocturno (a las 120 horas) todos los tratamientos redujeron las concentraciones de glucosa en plasma de manera significativa (figura 5). Las insulinas en plasma disminuyeron de manera significativa en todos los grupos tratados con halofenato, excepto en el de (+) halofenato a 125 mg/kg/día (figura 6).

5

EJEMPLO DE REFERENCIA 10

Este ejemplo se refiere a la mejora de la resistencia a la insulina y de la mala tolerancia a la glucosa con el uso de los compuestos.

10

A. Materiales y métodos

Se enjaularon ratas Zucker fa/fa (Charles River) macho de 8-9 semanas de edad (2-3 ratas/jaula) en condiciones normales de laboratorio a 22°C y 50% de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida Purina para roedores y agua a voluntad. Antes del tratamiento las ratas se repartieron en 6 grupos según su peso corporal. Cada grupo de tratamiento constaba de 8 ratas. Las ratas recibieron por vía oral mediante sonda nasogástrica una sola dosis oral de vehículo, de halofenato racémico (100 mg/kg), de (-) halofenato (50 o 100 mg/kg) o de (+) halofenato (50 o 100 mg/kg). Todos los compuestos se administraron en una formulación líquida que contenía dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), Tween 80 al 1% (v/v) y metilcelulosa al 2,7% (p/v). El volumen administrado por sonda fue de 10 ml/kg. Todas las ratas recibieron una sobrecarga de glucosa oral (1,9 g/kg) 5,5 horas después del tratamiento y 4 horas después de haberles retirado la comida. Transcurridos respectivamente 0, 15, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos de la sobrecarga de glucosa se extrajeron muestras de sangre para medir la glucosa en plasma. Los grupos de vehículo, (-) halofenato (50 mg/kg) y (+) halofenato (50 mg/kg) se sometieron a una sobrecarga de insulina tras la dosis nasogástrica diaria de los respectivos tratamientos durante 5 días. El día 5 las ratas recibieron la insulina por vía intravenosa (0,75 U/kg) 5,5 horas después de la última dosis y 4 después de la retirarles la comida. Se extrajeron muestras de sangre a los 3, 6, 9, 12, 15 y 18 minutos tras la inyección de insulina para medir la glucosa en plasma. Las concentraciones de glucosa en plasma se determinaron colorimétricamente utilizando el método de glucosa-oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significancia entre los grupos (comparando los grupos tratados con fármaco con los grupos tratados con vehículo o entre grupos tratados con fármaco) mediante la prueba t de Student no pareada.

20

25

30

B. Resultados

Como ilustra la figura 7A las ratas obesas Zucker con mala tolerancia a la glucosa tuvieron niveles de glucosa en plasma más bajos tras una sobrecarga de glucosa posterior al tratamiento con halofenato. El (-) halofenato fue el más eficaz para reducir la glucosa y su efecto duró más que el del racemato o el del enantiómero (+). La figura 7B muestra el incremento del área bajo la curva (ABC) para todos los grupos de tratamiento. Los animales tratados con el (-) halofenato mostraron reducciones significativas del área de la glucosa respecto a los controles tratados con vehículo. Aunque el ABC disminuyó en los grupos tratados con racemato o con (+) halofenato, los efectos no fueron tan grandes como en las ratas tratadas con (-) halofenato y las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

35

40

Los cambios en la sensibilidad a la insulina se evaluaron controlando el descenso de glucosa tras una inyección intravenosa de insulina. La pendiente de la recta es una indicación directa de la sensibilidad a la insulina del animal de ensayo. Como indica la figura 8, la sensibilidad a la insulina mejoró significativamente tras 5 días de tratamiento con (-) halofenato en comparación con los controles tratados con vehículo ($p < 0,01$) y con los animales tratados con (+) halofenato ($p < 0,05$). El tratamiento con (+) halofenato tuvo un pequeño efecto sobre la sensibilidad a la insulina que no fue significativamente diferente del control tratado con vehículo ($p = 0,083$). El tratamiento con (-) halofenato disminuyó sustancialmente la resistencia a la insulina en la rata obesa Zucker, un modelo bien establecido de mala tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina.

45

50

EJEMPLO DE REFERENCIA 11

Este ejemplo se refiere a la actividad de los compuestos en la reducción de los lípidos.

55

A. Materiales y métodos

Se obtuvieron ratas obesas diabéticas Zucker (ZDF) macho de GMI Laboratories (Indianapolis, IN) de 9 semanas de edad. Se administró diariamente vehículo o enantiómeros de halofenato por vía oral mediante sonda nasogástrica, comenzando a los 74 días de edad. Se extrajeron muestras de sangre iniciales para analizarlas un día antes del tratamiento y luego en los tiempos indicados en el protocolo de tratamiento. Se analizó la sangre mediante técnicas habituales para determinar triglicéridos y colesterol en plasma.

60

B. Resultados

En el ensayo I los animales recibieron una dosis de 25 mg/kg/día. Como se muestra en las figuras 9A y 9B solo se observó una disminución importante del colesterol en plasma en los animales tratados con el (-) halofenato tras 7 y

65

13 días de tratamiento. En el ensayo II animales de 107 días de edad recibieron dosis diarias de 12,5 mg/kg/día o de 37,5 mg/kg/día de los enantiómeros (-) y (+) de halofenato. Como se muestra en las figuras 10A y 10B el colesterol en plasma fue notablemente menor a los 7 días, pero no a los 14, del tratamiento con la dosis alta del (+) halofenato. En cambio con la dosis baja de (-) halofenato se observó una disminución significativa del colesterol a los 7 días.

5 Con la dosis alta se observó un descenso mucho mayor del colesterol en plasma que se hizo evidente tanto a los 7 como a los 14 días de tratamiento. Como se muestra en las figuras 11A y 11B, también se observó una disminución significativa de triglicéridos en plasma tras 7 días de tratamiento con la dosis alta, que fue de mayor magnitud en los animales tratados con el enantiómero (-) del halofenato.

10 EJEMPLO DE REFERENCIA 12

Este ejemplo se refiere a la actividad de reducción de la glucosa mediante el uso de análogos de (±) halofenato y análogos de (-) halofenato.

15 A. Materiales y métodos

Se compraron ratones C57BL/6J ob/ob macho de 8-9 semanas de edad de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). Los animales se alojaron (4-5 ratones/jaula) en condiciones normales de laboratorio a 22 ± 3°C de temperatura y 50 ± 20% de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida Purina para roedores y

20 agua a voluntad. Antes del tratamiento se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se utilizaron los animales que tenían niveles de glucosa en sangre de entre 250 y 500 mg/dl, sin ayunar. Cada grupo de tratamiento constaba de 8-10 ratones distribuidos de forma que los niveles medios de glucosa fuesen equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. Los ratones recibieron por vía oral mediante sonda nasogástrica una sola dosis diaria

25 durante 1-3 días de vehículo, de ácido (-) halofénico, de los análogos (±) 14, 29, 33, 34, 35, 36, 37 o 38 a 125 mg/kg o de los análogos (-) 29, 36, 37 o 38 a 150 mg/kg. Los compuestos se administraron en una formulación líquida que contenía dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), Tween 80 al 1% (v/v) y metilcelulosa al 0,9% (p/v). El volumen administrado por sonda fue de 10 ml/kg. Se extrajeron muestras de sangre 6 horas después de cada dosis y se

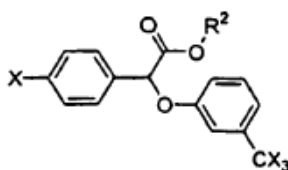
30 analizaron para determinar glucosa en plasma. Cada día se midió la ingesta de comida y el peso corporal. Las concentraciones de glucosa en plasma se determinaron colorimétricamente utilizando el método de glucosa-oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significancia entre grupos (comparando los grupos tratados con fármaco con los grupos tratados con vehículo) mediante la prueba t de Student no pareada.

B. Resultados

35 Tal como revela la tabla 2 se evaluaron los compuestos en 5 ensayos diferentes. El ácido (-) halofénico en dosis única disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6 horas. El análogo 14 redujo notablemente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6, 30 y 54 horas. El análogo 33 redujo notablemente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6 y 54 horas. Los análogos 29 y 38 redujeron significativamente las

40 concentraciones de glucosa en plasma a las 6, 30 y 54 horas. Los análogos 35 y 36 redujeron significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 30 y 54 horas. El análogo 37 redujo notablemente las concentraciones de glucosa en plasma a las 54 horas. Los análogos (-) 29, 36, 37 y 38 en dosis única redujeron significativamente las

concentraciones de glucosa en plasma a las 6 horas. Los tratamientos del compuesto no afectaron a la ingestión de comida ni al peso corporal del animal.



Fórmula II

45

Tabla 1: análogos (±) y (-) de halofenato. Compuestos descritos por referencia a la fórmula II.

Comp. nº	X	CX ₃	R ²
ácido halofénico	Cl	CF ₃	H
14	F	CF ₃	(CH ₂) ₂ NHAc
29	Br	CF ₃	(CH ₂) ₂ NHAc
33	Cl	CF ₃	(CH ₂) ₃ CH ₃
35	Cl	CF ₃	(CH ₂) ₂ NH(CH ₃) ₂
36	Cl	CF ₃	(CH ₂) ₂ NHCOPh
37	Cl	CF ₃	CH ₂ CONH ₂
38	Cl	CF ₃	CH ₂ CON(CH ₃) ₂

Tabla 2: actividades reductoras de glucosa del (±) halofenato y de los análogos de (-) halofenato

	Pre dosis	6 horas		30 horas		54 horas	
	Glucosa (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	VALOR P frente a vehículo	Glucosa (mg/dl)	VALOR P frente a vehículo	Glucosa (mg/dl)	VALOR P frente a vehículo
Vehículo	313 ± 18	303 ± 19,8		NA		NA	
Ácido (-) halofénico	312,9 ± 17,7	163,8 ± 11,8	0,0011	NA		NA	
Vehículo	360,2 ± 27,8	405,8 ± 25,8		356,0 ± 27,6		386,1 ± 20,6	
Análogo (±) 14	361,0 ± 17,1	328,9 ± 34,1	0,0444	267,0 ± 21,3	0,0099	293,0 ± 29,4	0,0092
Vehículo	291,6 ± 18,5	363,0 ± 25,1		340,8 ± 30,0		351,5 ± 23,8	
Análogo (±) 33	292,0 ± 19,1	227,5 ± 13,2	0,0001	298,0 ± 15,3	0,1119	286,6 ± 9,9	0,0125
Vehículo	387,1 ± 14,3	371,5 ± 24,2		326,2 ± 22,5		374,0 ± 37,9	
Análogo (±) 29	387,1 ± 16,0	299,7 ± 24,5	0,0259	237,4 ± 14,9	0,0020	293,3 ± 9,7	0,0268
Análogo (±) 35	387,0 ± 18,0	319,6 ± 26,7	0,0834	276,8 ± 17,6	0,0504	286,2 ± 31,5	0,0458
Análogo (±) 37	387,4 ± 18,8	345,4 ± 19,7	NS	312,5 ± 21,7	NS	285,1 ± 14,7	0,0210
Vehículo	329,6 ± 16,1	361,8 ± 23,2		346,5 ± 24,6		379,2 ± 24,4	
Análogo (±) 36	329,7 ± 17,6	300,5 ± 27,3	0,0522	249,7 ± 8,6	0,0008	272,2 ± 18,4	0,0013
Análogo (±) 38	329,4 ± 18,9	303,2 ± 18,2	0,0312	245,6 ± 15,6	0,0014	243,1 ± 10,6	0,0000

(continuación)

	Pre dosis	6 horas		30 horas		54 horas	
	Glucosa (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	VALOR P frente a vehículo	Glucosa (mg/dl)	VALOR P frente a vehículo	Glucosa (mg/dl)	VALOR P frente a vehículo
Vehículo	373,0 ± 13,6	405,8 ± 33,7		NA		NA	
Análogo (-) 36	373,2 ± 15,5	281,1 ± 18,2	0,0019	NA		NA	
Análogo (-) 37	373,4 ± 16,1	271,7 ± 22,5	0,0018	NA		NA	
Análogo (-) 38	373,4 ± 16,1	251,2 ± 23,6	0,0007	NA		NA	
Análogo (-) 29	372,2 ± 17,1	333,5 ± 16,1	0,0353	NA		NA	

5 EJEMPLO DE REFERENCIA 13

Este ejemplo se refiere a la comparación entre las actividades del (-) halofenato y el (+) halofenato.

A. Materiales y métodos

10

Se compraron ratas ZDF macho de 8-9 semanas de edad de Genetic Models, Inc. (Indianapolis, IN). Los animales se enjaularon (3 ratas/jaula) en condiciones normales de laboratorio a 22 ± 3°C de temperatura y 50 ± 20% de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida Purina para roedores y agua a voluntad. Antes del tratamiento se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se utilizaron las ratas que tenían niveles de glucosa en sangre entre 200 y 500 mg/dl tras 4 horas en ayunas. Cada grupo de tratamiento constaba de 8-10 ratas distribuidas de modo que los niveles medios de glucosa fuesen equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. Los ratas recibieron durante 3 días por vía oral una dosis diaria de 50 mg/kg de vehículo, de (-) halofenato o de (+) halofenato a través de sonda nasogástrica. Los compuestos se administraron en una formulación líquida que contenía dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), Tween 80 al 1% (v/v) y metilcelulosa al 0,9% (p/v). El volumen administrado por sonda fue de 5 ml/kg. Se tomaron muestras de sangre los días 2 y 3, 5 horas después de la dosis. Las concentraciones de glucosa en sangre se determinaron coloriméricamente utilizando el método de glucosa-oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significancia entre grupos (comparando los grupos tratados con fármaco con los grupos tratados con vehículo) mediante la prueba t de Student no pareada.

25

B. Resultados

La administración oral de 50 mg/kg de (-) halofenato disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma, mientras que los mismos niveles de dosis de (+) halofenato no consiguieron reducir las concentraciones de glucosa en plasma en comparación con los animales tratados con vehículo (figura 12).

30

EJEMPLO 14

Este ejemplo se refiere a un estudio farmacocinético del (±) halofenato y (-) halofenato.

A. Materiales y métodos

5 Se adquirieron ratas SD macho de 225-250 g de Charles River. Los animales se enjaularon (3 ratas/jaula) en condiciones normales de laboratorio a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ de temperatura y $50 \pm 20\%$ de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida Purina para roedores y agua a voluntad. Se les colocó un catéter en la arteria carótida izquierda bajo anestesia de pentobarbital sódico (50 mg/kg i.p.) y se dejó que los animales se recuperaran durante 2 días antes del tratamiento. Se administró una dosis única de 50 mg/kg de (±) halofenato o de (-) halofenato por vía oral mediante una sonda nasogástrica. Los compuestos se administraron en una formulación líquida que contenía dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), Tween 80 al 1% (v/v) y metilcelulosa al 0,9% (p/v). El volumen administrado por sonda fue de 5 ml/kg. Se tomaron muestras de sangre a las 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas tras la dosis. Se analizaron las muestras de plasma para determinar cada ácido enantiomérico (ácido (-) halofénico y ácido (+) halofénico) mediante un ensayo específico de HPLC quiral, ya que los ésteres son profármacos diseñados para convertirse en sus respectivos ácidos enantioméricos *in vivo*.

B. Resultados

20 Después de la administración oral de halofenato (±), tanto el ácido (-) halofénico como el ácido (+) halofénico se detectaron en las muestras de plasma. Tal como se muestra en la tabla 3, parece que los dos ácidos enantioméricos tienen perfiles de actuación diferentes. La eliminación del ácido (-) halofénico fue mucho más lenta que la del ácido (+) halofénico. Como resultado el ABC del ácido (-) halofénico fue significativamente superior al ABC del ácido (+) halofénico, 4708,0 frente a 758,0 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ y la semivida terminal fue de 46,8 frente a 14,3 horas.

25 Después de la administración oral de (-) halofenato el perfil de disposición del ácido (-) halofénico fue básicamente idéntico a la administración de (±) halofenato, ya que la semivida terminal es la misma (tabla 2). La C_{max} y el ABC del ácido (-) halofénico fueron proporcionalmente superiores debido simplemente a la cantidad superior de (-) halofenato administrado (tabla 3). También se detectó ácido (+) halofénico en el plasma pero la concentración fue mucho menor que la de ácido (-) halofénico. Se especula con que el ácido (+) halofénico se formó *in vivo*, ya que la semivida terminal ($T_{1/2}$) de ambos ácidos fue similar.

Estos resultados sugieren que el uso del (-) halofenato es más conveniente, ya que el ABC del ácido (-) halofénico fue significativamente superior al ABC del ácido (+) halofénico.

35 **Tabla 3: análisis farmacocinético de (-) halofenato (enantiómero -) y (+) halofenato (enantiómero +)**

Fármaco administrado	(-) Halofenato (n = 3)		(±) Halofenato (n = 1)	
Enantiómero	-	+	-	+
Dosis administrada	50 mg/kg	0 (metabolito)	25 mg/kg	25 mg/kg
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	$114,6 \pm 29,7$	$2,4 \pm 0,5$	65,2	30,5
T_{max} (horas)	8 - 12	6 - 12	12	6
ABC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	7159 ± 1103	$164,3 \pm 79,3$	4708	758
$T_{1/2}$ (horas)	$46,4 \pm 4,7$	$41,7 \pm 11,8$	46,8	14,3

La dosis de cada enantiómero en el (±) halofenato es el 50% de la dosis total de la mezcla racémica.

Tabla 4: concentraciones de ácido (-) halofénico y ácido (+) halofénico en plasma tras una dosis única de (-) halofenato

Tiempo (horas)	Compuesto analizado ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)					
	ácido (-) halofénico			ácido (+) halofénico		
	Rata 8	Rata 9	Rata 11	Rata 8	Rata 9	Rata 11
0	BLC	BLC	BLC	BLC	BLC	BLC
1	81,2	23,7	61,0	1,12	BLC	BLC
2	100,1	30,4	87,8	1,27	BLC	1,09
4	122,3	36,9	94,5	1,67	BLC	1,95
6	128,3	56,5	116,3	2,96	BLC	1,73
8	128,2	79,0	127,8	2,58	BLC	2,06
12	135,3	80,6	104,8	2,85	2,23	2,08
24	82,5	73,1	66,5	2,22	1,29	1,86
48	56,2	44,5	47,1	1,64	1,03	1,14
72	39,7	37,4	30,8	1,25	BLC	BLC
96	31,1	N/D	24,6	BLC	N/D	BLC
120	20,3	N/D	N/D	BLC	N/D	N/D

BLC = bajo el límite cuantificable < 1,00 $\mu\text{g}/\text{ml}$
 N/D = muestra no disponible

EJEMPLO DE REFERENCIA 15

Este ejemplo se refiere a la prevención del desarrollo de la diabetes y al alivio de la hipertrigliceridemia por medio del (-) halofenato.

5

A. Materiales y métodos

Se compraron ratones C57BL/6J db/db macho de 4 semanas de edad de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). Los animales (5 ratones/jaula) se enjaularon en condiciones normales de laboratorio a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ de temperatura y $50 \pm 20\%$ de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida en polvo para roedores de Purina (nº 8640) y agua a voluntad. Antes del tratamiento se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal para determinar las concentraciones de glucosa, insulina y triglicéridos en plasma. Los ratones se distribuyeron de manera que los niveles medios de glucosa y el peso corporal fueran equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. Al grupo de control (20 ratones) se le puso comida en polvo mezclada con sacarosa al 5% y al grupo de tratamiento (20 ratones) comida en polvo mezclada con sacarosa al 5% y (-) halofenato. La dosis de (-) halofenato en la comida se ajustó continuamente según el peso corporal del animal y la ingestión de comida, para cumplir con la dosificación deseada de 150 mg/kg/día. Se tomaron muestras de sangre sin ayunar a las 8-10 a.m. una vez por semana durante 9 semanas. Se midió la ingesta de comida y el peso corporal cada 1-3 días. Las concentraciones de triglicéridos y glucosa en plasma se determinaron coloriméticamente utilizando kits de Sigma Chemical Co (nº 315 y nº 339, St. Louis, MO, EE.UU.). Los niveles de insulina en plasma se midieron utilizando el kit de ensayo RIE adquirido a Linco Research (St. Charles, MO). Se evaluó la diferencia de significancia entre grupos (comparando los grupos tratados con fármaco con los grupos tratados con vehículo) mediante la prueba t de Student no pareada.

25

B. Resultados

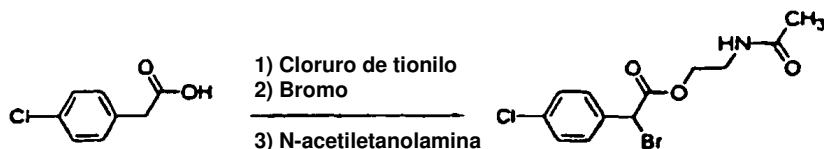
A las 4 semanas de edad los ratones C57BL/6J db/db se hallan en un estado prediabético. Sus concentraciones de glucosa en plasma son normales, pero las concentraciones de insulina en plasma son notablemente elevadas. Como muestra la figura 13, las concentraciones de glucosa en plasma en ambos grupos eran normales al comienzo del experimento. Siguiendo el curso natural del desarrollo de la diabetes, los niveles de glucosa en plasma en el grupo de control aumentaron progresivamente a medida que los animales crecían, mientras que en el grupo tratado con (-) halofenato se impidió o retrasó significativamente el incremento de los niveles de glucosa en plasma. Tal como se representa en la figura 15, aproximadamente el 30% de los ratones del grupo tratado con (-) halofenato no desarrolló diabetes, entendiéndose como tal niveles de glucosa en plasma > 250 mg/dl. Por otra parte ninguno de los ratones del grupo control estaba libre de diabetes a la edad de 10 semanas. De modo consistente con los resultados de glucosa en plasma, la insulina en plasma del grupo control disminuyó progresivamente, lo cual indica la pérdida de capacidad del páncreas para segregar insulina. El tratamiento con (-) halofenato mantuvo la concentración de la insulina en plasma, lo cual es un indicio de la prevención del deterioro de la función pancreática (figura 14).

40

En la figura 16 se representa la evolución de las concentraciones de triglicéridos en plasma de los ratones C57BL/6J db/db en función de su edad. El tratamiento con (-) halofenato evitó el aumento de la concentración de triglicéridos en plasma durante el curso del experimento.

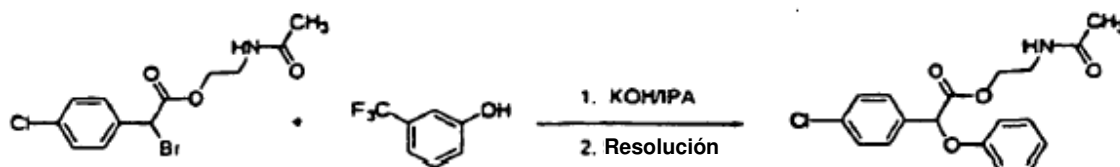
EJEMPLO 16

En este ejemplo se describe la preparación del (-) 2-acetamidoetil 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxil)-acetato ((-) halofenato).



50

Se combinó ácido 4-clorofenilacético con 1,2-dicloroetano y la disolución resultante se calentó hasta 45°C . Se añadió cloruro de tionilo a la mezcla reactiva y se calentó a 60°C durante 18 horas. La reacción se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y luego se añadió lentamente a una disolución de N-acetiletanolamina en diclorometano. Después de agitar durante 30 minutos se paró la reacción con carbonato potásico y tiosulfato sódico acuoso. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato magnésico y se filtró. La eliminación del disolvente por evaporación rotativa dio N-acetilaminoetil 2-bromo-2-(4-clorofenil)-acetato en forma de aceite.



55

Se añadió 3-hidroxibenzotrifluoruro a una solución de hidróxido potásico en isopropanol. Se añadió N-acetilaminoetil 2-bromo-2-(4-clorofenil)-acetato en isopropanol a la disolución de isopropanol/fenóxido y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. El isopropanol se eliminó por destilación al vacío y el fango resultante se disolvió en acetato de etilo y se lavó dos veces con agua y una con salmuera. Después de secar sobre sulfato magnésico y filtrar se eliminó el disolvente para obtener el producto en bruto en forma de aceite. El producto crudo se disolvió en mezcla caliente de tolueno/hexanos (1:1 v/v) y se enfrió entre 0 y 10°C para cristalizarlo. La torta de filtración se lavó con hexanos/tolueno (1:1 v/v) y después se secó al vacío a 50°C. El sólido aislado se disolvió en mezcla caliente de isopropanol/hexanos 1:6 (v/v). Después de enfriar se formó el 2-acetamidoetil 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxil)-acetato racémico puro en forma de sólido cristalino. Se recogió el sólido por filtración, la torta de filtración se lavó con isopropanol/hexanos 1:6 (v/v) y se secó al vacío a 50°C.

El compuesto racémico se disolvió al 2,5% (p/p) en una mezcla de 20% de isopropanol (IPA) y 80% de hexano. La disolución resultante se hizo pasar en continuo por una columna Whelk-O R,R Chiral Stationary Phase (CSP) hasta lograr un extracto de ee > 98%. El disolvente del extracto se evaporó a presión reducida para dar (-) 2-acetamidoetil 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxil)acetato. (La resolución se efectuó por cromatografía de lecho móvil simulado, de Universal Pharm Technologies LLC de 70 Flagship Drive, North Andover, MA 01845.)

EJEMPLO 17

Este ejemplo se refiere a la reducción de los niveles de ácido úrico en plasma mediante la administración de (-) halofenato.

A. Materiales y métodos

Se compraron ratas SD macho de Charles River, de 275-300 g de peso. Los animales se enjaularon (3 ratas/jaula) en condiciones normales de laboratorio, a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ de temperatura y $50 \pm 20\%$ de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de comida en polvo para roedores de Purina (nº 8640) y agua a voluntad. Para causar un estado hiperuricémico se puso a los animales durante todo el ensayo una dieta que contenía 2,5% (p/p) de ácido oxónico (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.). El ácido oxónico aumenta el ácido úrico en plasma inhibiendo la uricasa. A los tres días del inicio de la dieta se examinaron las ratas para determinar los niveles de ácido úrico en plasma y se excluyeron aquellas que tenían niveles extremos de ácido úrico en plasma. Las ratas se repartieron en tres grupos de modo que los niveles medios de ácido úrico fuesen equivalentes en cada grupo. Las ratas recibieron durante 3 días a través de sonda nasogástrica una dosis oral diaria de 50 mg/kg de vehículo, de (-) halofenato o de (+) halofenato. Al cuarto día las ratas respectivas recibieron 100 mg/kg de (-) halofenato o de (+) halofenato y todas las ratas recibieron una inyección i.p. de ácido oxónico (250 mg/kg) 4 horas después de la administración oral por sonda. El (-) halofenato y el (+) halofenato se administraron en una formulación líquida que contenía dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), Tween 80 al 1% (v/v) y metilcelulosa al 0,9% (p/v). El ácido oxónico se administró mediante una formulación líquida que contenía metilcelulosa al 0,9% (p/v). Los volúmenes administrados mediante la sonda y la inyección fueron de 5 ml/kg. El día 4 se extrajeron muestras de sangre transcurridas 6 horas de la administración oral por sonda nasogástrica. Los niveles de ácido úrico en plasma se determinaron colorimétricamente utilizando el reactivo Infinity Uric Acid (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significancia entre grupos (comparando los grupos tratados con fármaco con los grupos tratados con vehículo) mediante la prueba t de Student no pareada.

B. Resultados

Como muestra la figura 17, la administración oral de (-) halofenato redujo significativamente los niveles de ácido úrico en plasma. El (+) halofenato también rebajó los niveles de ácido úrico en plasma, pero no fue estadísticamente significativo.

EJEMPLO 18

Este ejemplo se refiere a la inhibición de las isoformas del citocromo P450 mediante los compuestos.

A. Materiales y métodos

Para investigar el potencial inhibidor del compuesto ensayado sobre las isoformas 1A2, 2A6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 y 3A4 del citocromo P450 se usaron los siguientes sustratos de prueba: fenacetina 100 μM (CYP1A2), cumarina 1 μM (CYP2A6), tolbutamida 150 μM (CYP2C9), S-mefenitoína 50 μM (CYP2C19), dextrometorfano 16 μM (CYP2D6), clorzoxazona 50 μM (CYP2E1) y testosterona 80 μM (CYP3A4). Se determinó la actividad de cada isoforma en microsomas hepáticos humanos en presencia y ausencia del compuesto de prueba.

A menos que indique de otra manera, todas las incubaciones se realizaron a 37°C . El tamaño de muestra fue $N = 3$ para todos los ensayos y condiciones de control positivo y $N = 6$ para todas las condiciones de control de vehículo. El ácido (-) halofénico (PM = 330) se preparó a temperatura ambiente en forma de soluciones concentradas 1000X en metanol y después se diluyó con tampón Tris hasta concentraciones finales de 0,33, 1,0, 3,3, 10 y 33,3 μM , cada

una de las cuales contenía 0,1% de metanol. En todos los grupos experimentales se incluyó un control de vehículo (CV) formado por microsomas y un sustrato en tampón Tris que contenía un 0,1% de metanol sin el compuesto de ensayo. Las mezclas de control positivo (CP) se prepararon empleando los siguientes inhibidores de CYP450 conocidos: furafilina 5 μM (CYP1A2), tranilcipromina 250 μM (CYP2A6), sulfafenazol 50 μM (CYP2C9), omeprazol 10 μM (CYP2C 19), quinidina 1 μM (CYP2D6), 4-metilpirazol 100 μM (CYP2E1) y ketoconazol 5 μM (CYP3A4). Se incluyó un control de interferencia cromatográfica (CIC) para investigar la posibilidad de interferencia cromatográfica por el compuesto de ensayo y sus metabolitos. El compuesto de ensayo se incubó (a 33,3 $\mu\text{g/ml}$) con proteína microsómica 1X, NRS 1X y 10 μl de una sustancia orgánica apropiada durante un periodo de tiempo apropiado, tal como se describe a continuación.

En este estudio se utilizaron lotes congelados y estables de microsomas hepáticos masculinos y femeninos adultos, mezclados y preparados mediante centrifugación diferencial de homogenatos de hígado (véase p.ej. Guengerich, F.P. (1989). Analysis and characterization of enzymes, en Principles and Methods of Toxicology (A.W. Hayes, Ed.), 777-813. Raven Press, Nueva York). Las mezclas para incubación se prepararon en tampón Tris, de manera que contuvieran la proteína microsómica (1 mg/ml), la respectiva concentración de sustrato de prueba (como soluciones concentradas 100X) y el compuesto de ensayo (a cada concentración) o CP según lo apropiado para cada isoforma. Tras una preincubación de 5 minutos a 37°C se añadió un sistema regenerador de NADPH (NRS) para iniciar las reacciones y las muestras se incubaron a 37°C durante los siguientes periodos de tiempo: 30 minutos para la fenacetina (CYP1A6), 20 minutos para la cumarina (CYP2A6), 40 minutos para la tolbutamida (CYP2C9), 30 minutos para la S-mefenitoína (CYP2C 19), 15 minutos para el dextrometorfano (CYP2D6), 20 minutos para la cloroxazona (CYP2E1) y 10 minutos para la testosterona (CYP3A4). Las reacciones de incubación se terminaron en el tiempo adecuado con la adición de un volumen igual de metanol, menos para las incubaciones con S-mefenitoína, que se terminaron con la adición de 10 μl de ácido perclórico. Todos los sustratos se evaluaron cerca de sus respectivas concentraciones K_m , tal como se ha indicado anteriormente.

Después de cada incubación se determinaron las actividades de las isoformas del P450, midiendo las tasas de metabolismo para los respectivos sustratos de prueba. Los metabolitos controlados para cada sustrato de prueba fueron los siguientes: acetaminofeno para CYP1A2, 7-hidroxycumarina para CYP2A6, 4-hidroxitolbutamida para CYP2C9, 4-hidroximefenitoína para CYP2C19, dextrometorfano para CYP2D6, 6-hidroxicloroxazona para CYP2E1 y 6 β -hidroxitestosterona para CYP3A4. Las actividades se analizaron por HPLC (In Vitro Technologies, Inc., Baltimore, MD).

La inhibición se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de Inhibición} = [(\text{control de vehículo} - \text{tratamiento}) / \text{control de vehículo}] \times 100$$

Los porcentajes de inhibición del compuesto de ensayo se presentaron en formato de tabla. Se calcularon los datos estadísticos descriptivos (desviación media y estándar) para cada concentración del compuesto de ensayo y luego se presentaron para mostrar la potencia inhibidora. También se calcularon los valores CI_{50} del compuesto de ensayo mediante una ecuación de ajuste de curva de 4 parámetros en Softmax 2.6.1.

En este ejemplo las mediciones de tiempo, temperatura y concentración son aproximadas.

B. Resultados

En las tablas 5-8 se muestran los resultados para cada una de las 7 isoformas del citocromo P450 expresados como actividad metabólica y porcentaje de inhibición. El ácido (-) halofénico inhibió la producción de 4-hidroxitolbutamida (CYP2C9, $CI_{50} = 11 \mu\text{M}$) y también inhibió la producción de 4-hidroximefenitoína (CYP2C19) a unos niveles de dosificación de 10 y 33 μM . No se observó inhibición de otras isoformas del CYP450. Debe observarse que en este ensayo la CI_{50} para el CYP2C9 fue aproximadamente tres veces la indicada en el ejemplo 7 (11 μM comparado con 3,6 μM). Este resultado se debe muy probablemente, al menos en parte, al uso de un ácido (-) halofénico de pureza inferior (de menor ee) en el ejemplo 7.

Tabla 5: actividades microsómicas hepáticas de la fenacetina (CYP1A2) y la cumarina (CYP2A6) en microsomas de hombres y mujeres incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 10, y 33,3 μM

Control/Compuesto de ensayo	Conc. (μM)	Fenacetina		Cumarina	
		Producción de AC (pmol/mg de proteína/min)	% de Inhibición	Producción de 7-HC (pmol/mg de proteína/min)	% de Inhibición
CIC	33,3	0,00 \pm 0,00	NA	0,00 \pm 0,00	NA
CV	0,1%	118 \pm 2	0	32,0 \pm 1,4	0
FUR	5	54,5 \pm 1,3	54	NA	NA
TRAN	250	NA	NA	0,00 \pm 0,00	100

Ácido (-) halofénico	0,33	116 ± 2	1	33,3 ± 0,7	-4
	1,0	118 ± 2	0	32,6 ± 0,7	-2
	3,3	119 ± 2	-1	32,1 ± 0,7	0
	10	119 ± 2	-1	33,1 ± 0,7	-3
	33,3	119 ± 2	-1	32,3 ± 0,7	-1
	Cl ₅₀	NA	NA	NA	

Los valores son la media ± la desviación estándar de N = 3 muestras (CV: N = 6). Abreviaturas: Conc., concentración; AC, acetaminofeno; 7-HC, 7-hidroxycumarina; CIC, control de interferencia cromatográfica; CV, control de vehículo (0,1% de metanol); NA, no aplicable; FUR, furafilina; TRAN, tranilcipromina.

Tabla 6: actividades microsómicas hepáticas de tolbutamida (CYP2C9) y S-mefenitoína (CYP2C19) en microsomas de hombres y mujeres incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 10, y 33,3 µM

Control/Compuesto de ensayo	Conc. (µM)	Tolbutamida		S-Mefenitoína	
		Producción de 4-OH TB (pmol/mg de proteína/min)	% de Inhibición	Producción de 4-OH ME (pmol/mg de proteína/min)	% de Inhibición
CIC	33,3	0,00 ± 0,00	NA	0,00 ± 0,00	NA
CV	0,1%	43,0 ± 1,4	0	3,17 ± 0,29	0
OMP	10	NA	NA	1,58 ± 0,05	50
SFZ	50	BLC	-100	NA	NA
Ácido (-) halofénico	0,33	41,0 ± 0,9	5	3,03 ± 0,03	4
	1,0	38,6 ± 0,5	10	3,01 ± 0,07	5
	3,3	34,2 ± 0,2	21	2,69 ± 0,12	15
	10	22,7 ± 0,6	47	2,43 ± 0,09	23
	33,3	12,7 ± 0,2	71	1,80 ± 0,07	43
	Cl ₅₀	~11,335 µM		> 33,3 µM	

(continuación)

Los valores son la media ± la desviación estándar de N = 3 muestras (CV: N = 6). Abreviaturas: Conc., concentración; 4-OH TB, 4- hidroxitolbutamida; 4-OH ME, 4-hidroximefenitoína; CIC, control de interferencia cromatográfica; CV, control de vehículo (0,1% de metanol); NA, no aplicable; OMP, omeprazol; SFZ, sulfafenazol; BLC, por debajo del límite cuantificable.

5

Tabla 7: actividades microsómicas hepáticas de dextrometorfano (CYP2D6) y clorzoxazona (CYP2E1) en microsomas de hombres y mujeres incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 10, y 33,3 µM

Control/Compuesto de ensayo	Conc. (µM)	Dextrometorfano		Clorzoxazona	
		Producción de DEX (pmol/mg de proteína/min)	% de Inhibición	Producción de 6-OH CZX (pmol/mg de proteína/min)	% de Inhibición
CIC	33,3	0,00 ± 0,00	NA	0,00 ± 0,00	NA
CV	0,1%	111 ± 6	0	246 ± 5	0
4-MP	100	NA	NA	BLC	~100
QUIN	1	BLC	~100	NA	NA
Ácido (-) halofénico	0,33	107 ± 4	3	238 ± 4	3
	1,0	110 ± 2	1	244 ± 1	1
	3,3	104 ± 3	6	239 ± 4	3
	10	107 ± 1	4	244 ± 6	1
	33,3	106 ± 4	5	239 ± 4	3
	Cl ₅₀	NA	NA	NA	

Los valores son la media ± la desviación estándar de N = 3 muestras (CV: N = 6). Abreviaturas: Conc., concentración; DEX, dextrometorfano; 6-OH CZX, 6-hidroxiclorzoxazona; CIC, control de interferencia cromatográfica; CV, control de vehículo (0,1% de metanol); NA, no aplicable; 4-MP, 4-metilpirazol; QUIN, quinidina; BLC, por debajo del límite cuantificable.

10

Tabla 8: actividades microsómicas hepáticas de testosterona (CYP3A4) en microsomas de hombres y mujeres incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 10, y 33,3 µM

Control/Compuesto de ensayo	Conc. (µM)	Testosterona	
		Producción de 6β-OHT (pmol/mg de proteína/min)	% de Inhibición
CIC	33,3	0,00 ± 0,00	NA
CV	0,1%	1843 ± 9	0
KTZ	5	32,4 ± 0,2	98,2
Ácido (-) halofénico	0,33	1816 ± 12	1,5

ES 2 371 476 T3

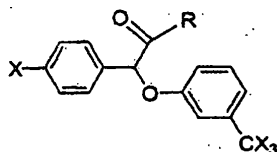
	1,0	1851 ± 14	0
	3,3	1810 ± 3	1,8
	10	1819 ± 4	1,3
	33,3	1816 ± 6	1,5
	CI ₅₀		NA
Los valores son la media ± la desviación estándar de N = 3 muestras (CV: N = 6). Abreviaturas: Conc., concentración; 6β-OHT, 6β-hidroxitestosterona; CIC, control de interferencia cromatográfica; CV, control de vehículo (0,1% de metanol); NA, no aplicable; KTZ, ketoconazol.			

Aunque la presente invención se ha descrito detalladamente con el fin de su clara comprensión, es obvio que se pueden llevar a cabo ciertas modificaciones dentro del ámbito de las reivindicaciones secundarias.

5

REIVINDICACIONES

1. Uso del estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula I,



(I)

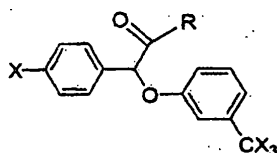
donde R es un miembro escogido del grupo formado por hidroxilo, aralcoxi inferior, dialquilamino inferior-alcoxi inferior, alcanamido inferior-alcoxi inferior, benzamido-alcoxi inferior, ureido-alcoxi inferior, N'-alquilo inferior-ureido-alcoxi inferior, carbamoíl-alcoxi inferior, alcoxi inferior sustituido con halofenoxi, fenoxi sustituido con carbamoilo, carbonilo-alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior-alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanóloxi inferior, ureido y alcoxi inferior-carbonilamino, y

cada X es independientemente un halógeno; o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

donde el estereoisómero (-) está sustancialmente exento del estereoisómero (+) del compuesto, para preparar un medicamento destinado al tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero.

2. El estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula I,



(I)

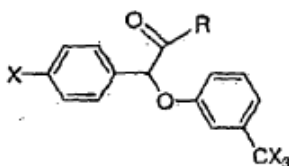
donde R es un miembro escogido del grupo formado por hidroxilo, aralcoxi inferior, dialquilamino inferior-alcoxi inferior, alcanamido inferior-alcoxi inferior, benzamido-alcoxi inferior, ureido-alcoxi inferior, N'-alquilo inferior-ureido-alcoxi inferior, carbamoíl-alcoxi inferior, alcoxi inferior sustituido con halofenoxi, fenoxi sustituido con carbamoilo, carbonilo-alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior-alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanóloxi inferior, ureido y alcoxi inferior-carbonilamino, y

cada X es independientemente un halógeno; o

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

donde el estereoisómero (-) está sustancialmente exento del estereoisómero (+) del compuesto, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero.

3. El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, siendo este compuesto un compuesto de la fórmula II,



(I)

donde R² es un miembro escogido del grupo formado por fenil-alquilo inferior, alcanamido inferior-alquilo inferior y benzamido-alquilo inferior.

4. El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, siendo este compuesto (-) 2-acetamidoetil 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato.

5. El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, en que el medicamento está formulado para infusión intravenosa, administración

transdérmica o administración oral.

- 5 **6.** El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, en que la cantidad administrada es de 100 mg a 3000 mg diarios.
7. El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, en que la cantidad administrada es de 500 mg a 1500 mg diarios.
- 10 **8.** El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, en que la cantidad administrada es de 1 a 250 mg diarios.
- 15 **9.** El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, en que el estereoisómero (-) es el ácido (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10.** El uso o el compuesto de una de las reivindicaciones anteriores, en que el estereoisómero (-) se emplea en un exceso enantiomérico respecto al estereoisómero (+) de al menos el 80%.
- 20 **11.** El uso o el compuesto de la reivindicación 10, en que el estereoisómero (-) se emplea en un exceso enantiomérico respecto al estereoisómero (+) de al menos el 98%.
- 12.** El empleo de la reivindicación 1 o del compuesto de la reivindicación 2, para usarlo en el tratamiento de la hiperuricemia en un mamífero, en que el mamífero es humano.

25

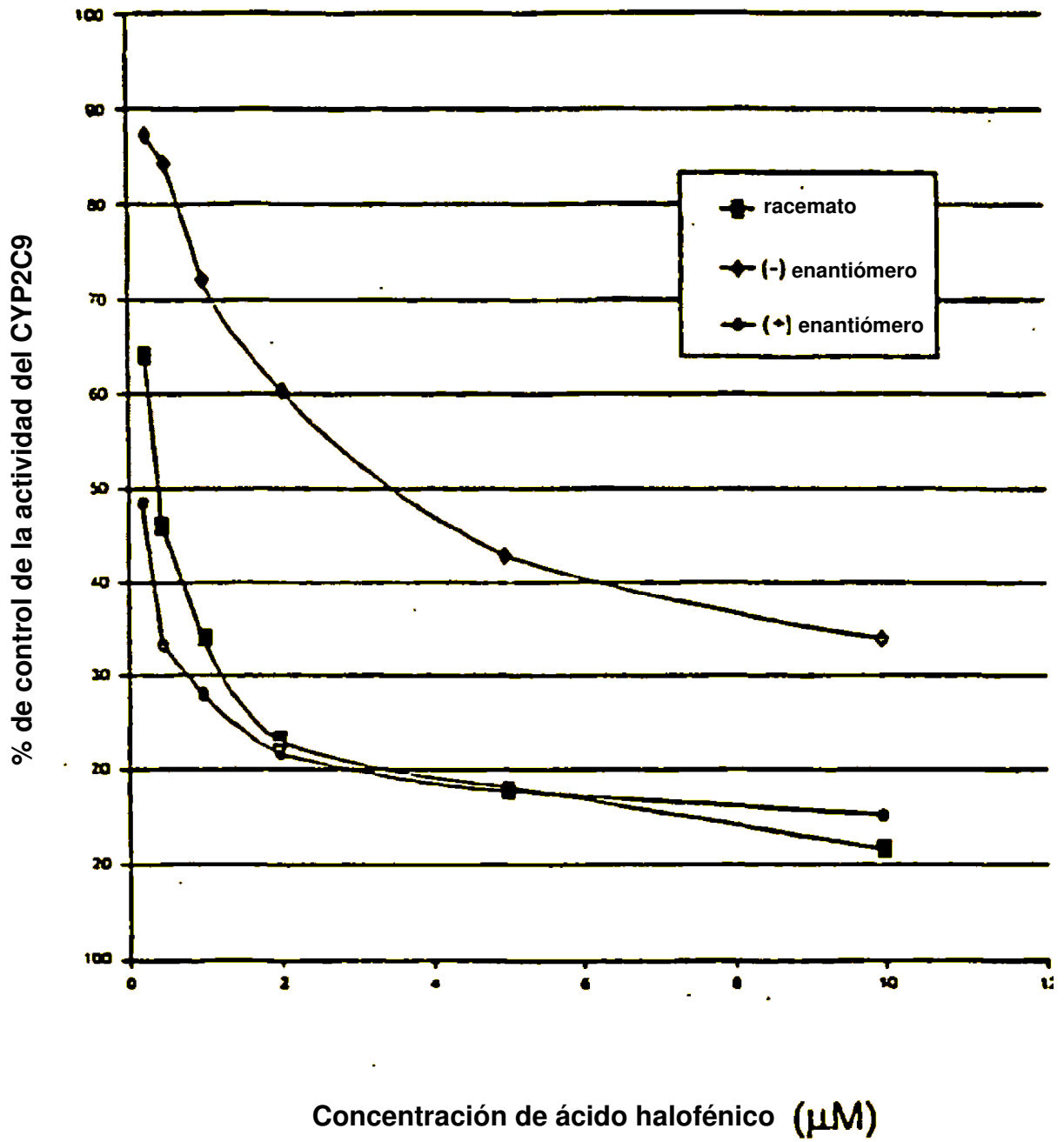
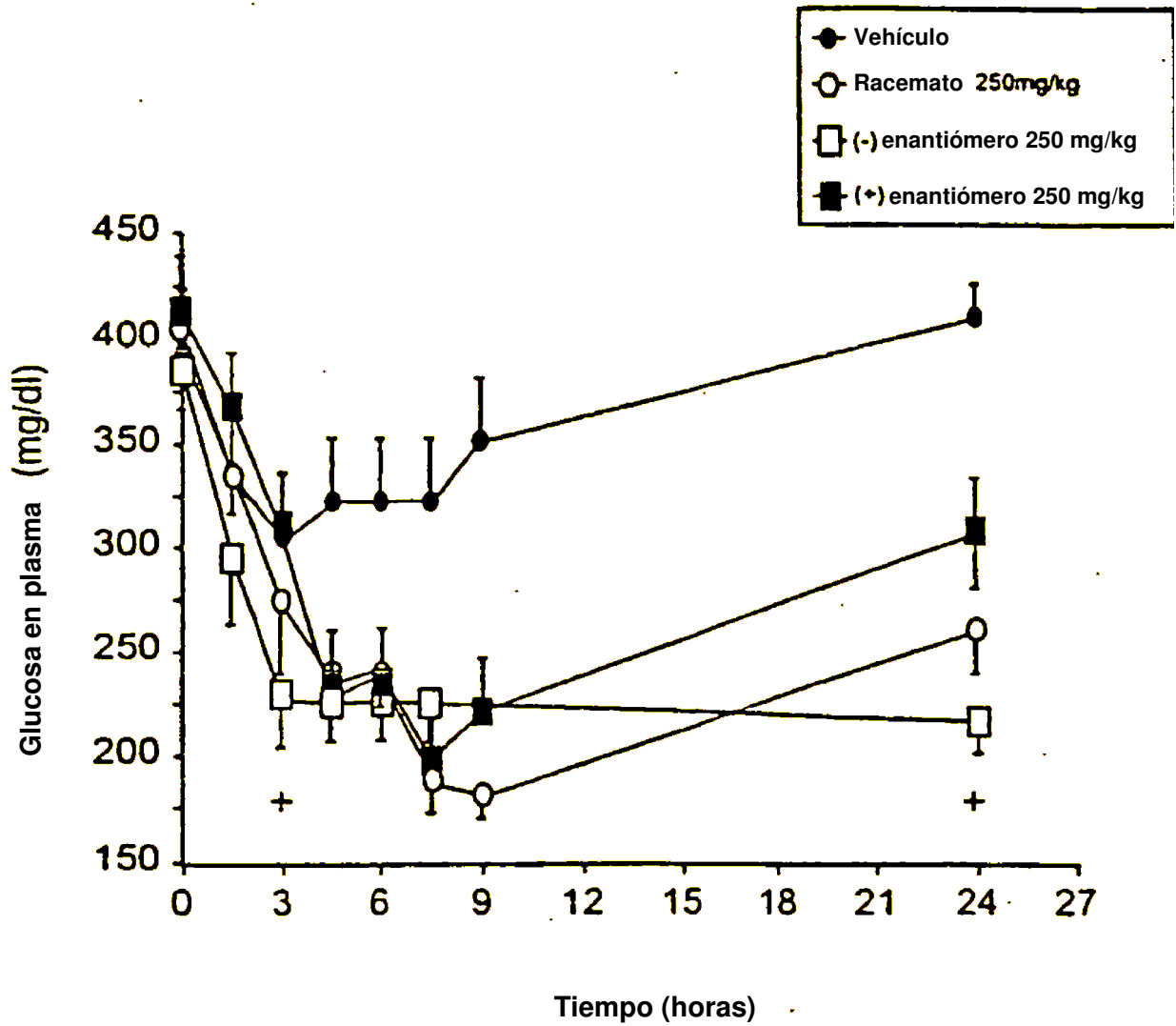


FIG. 1



#P=0.0986 en comparación con el enantiómero (+)
 *P<0.05 en comparación con el enantiómero (+)

FIG. 2

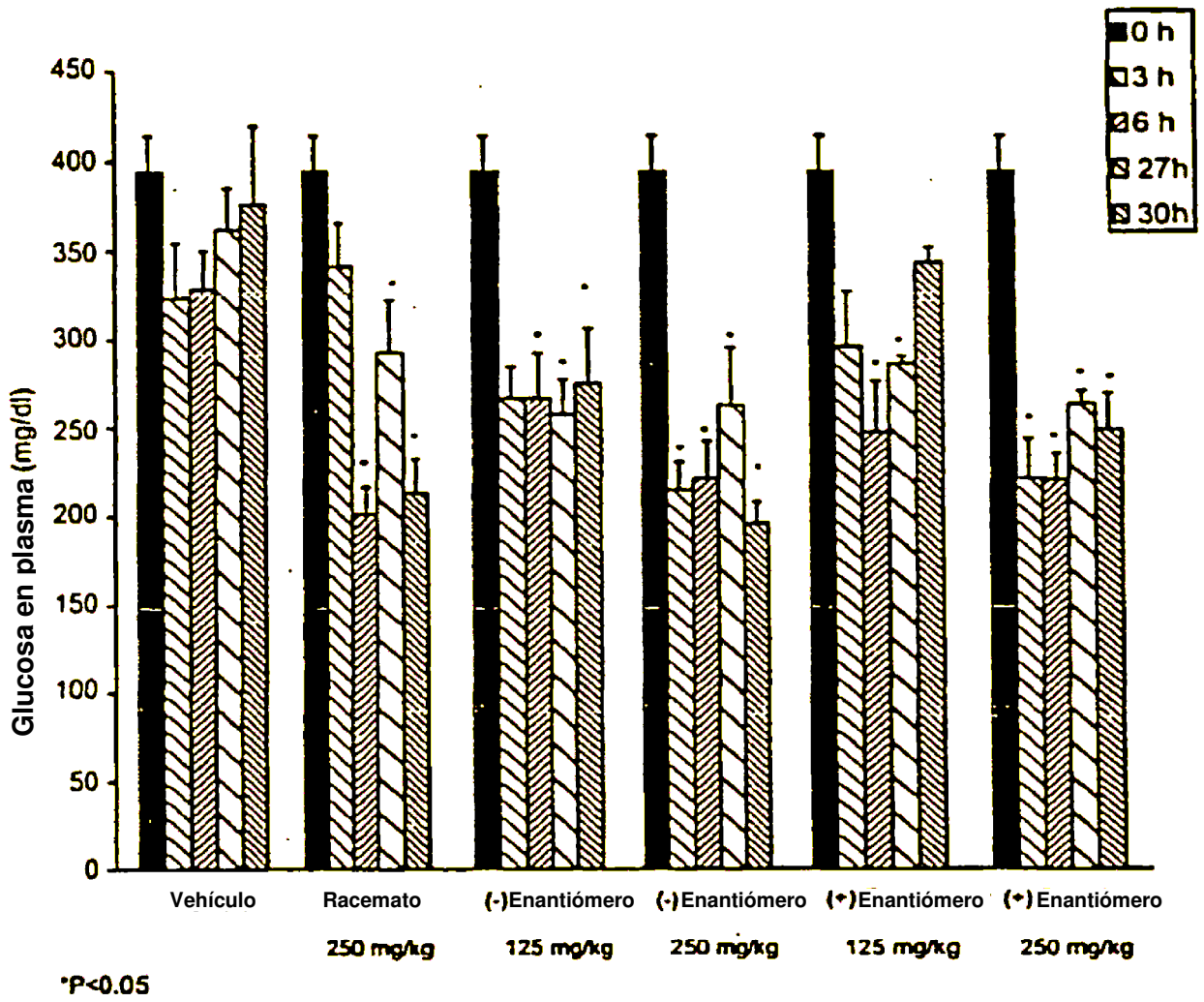
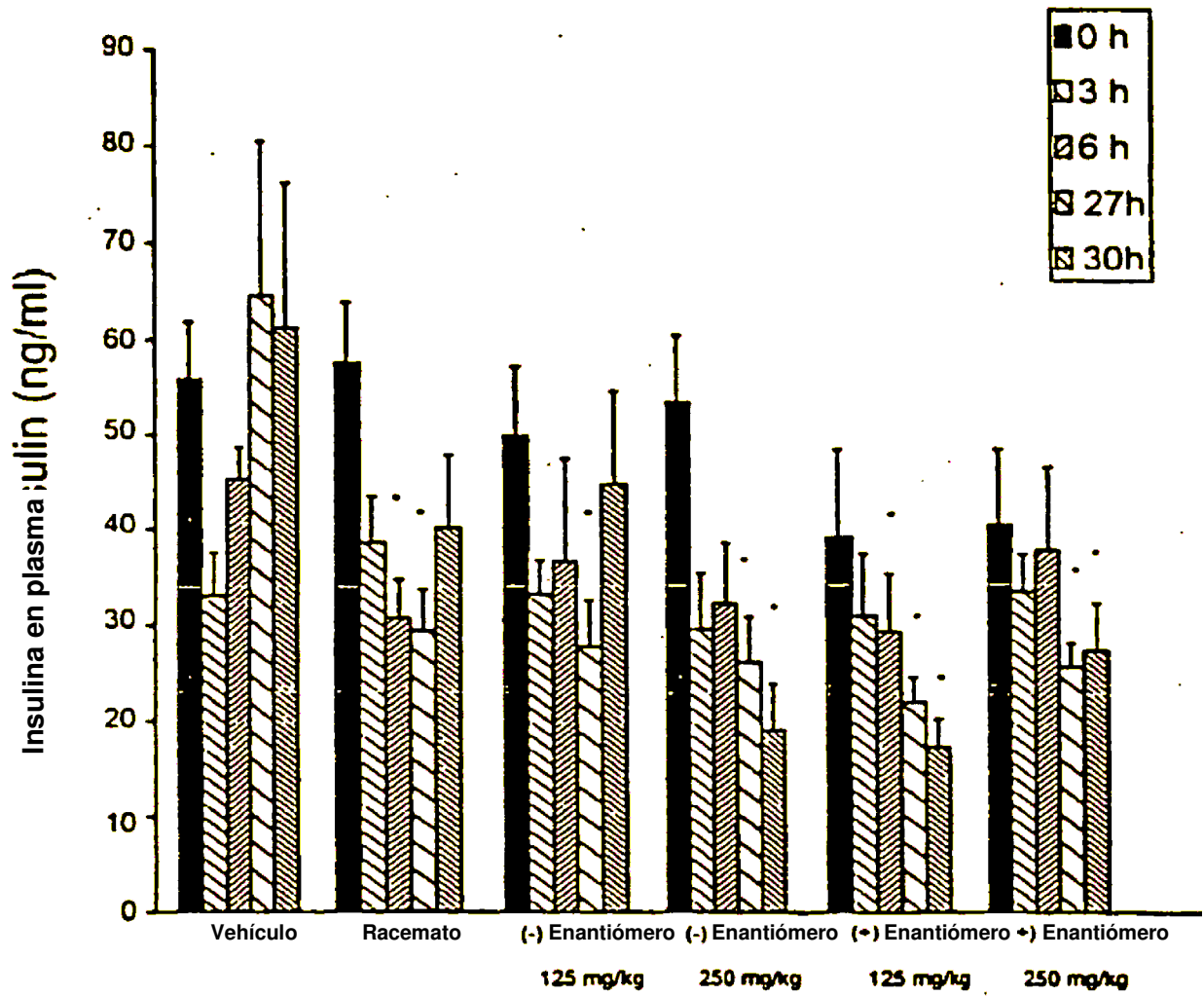


FIG. 3



*P<0.05

FIG. 4

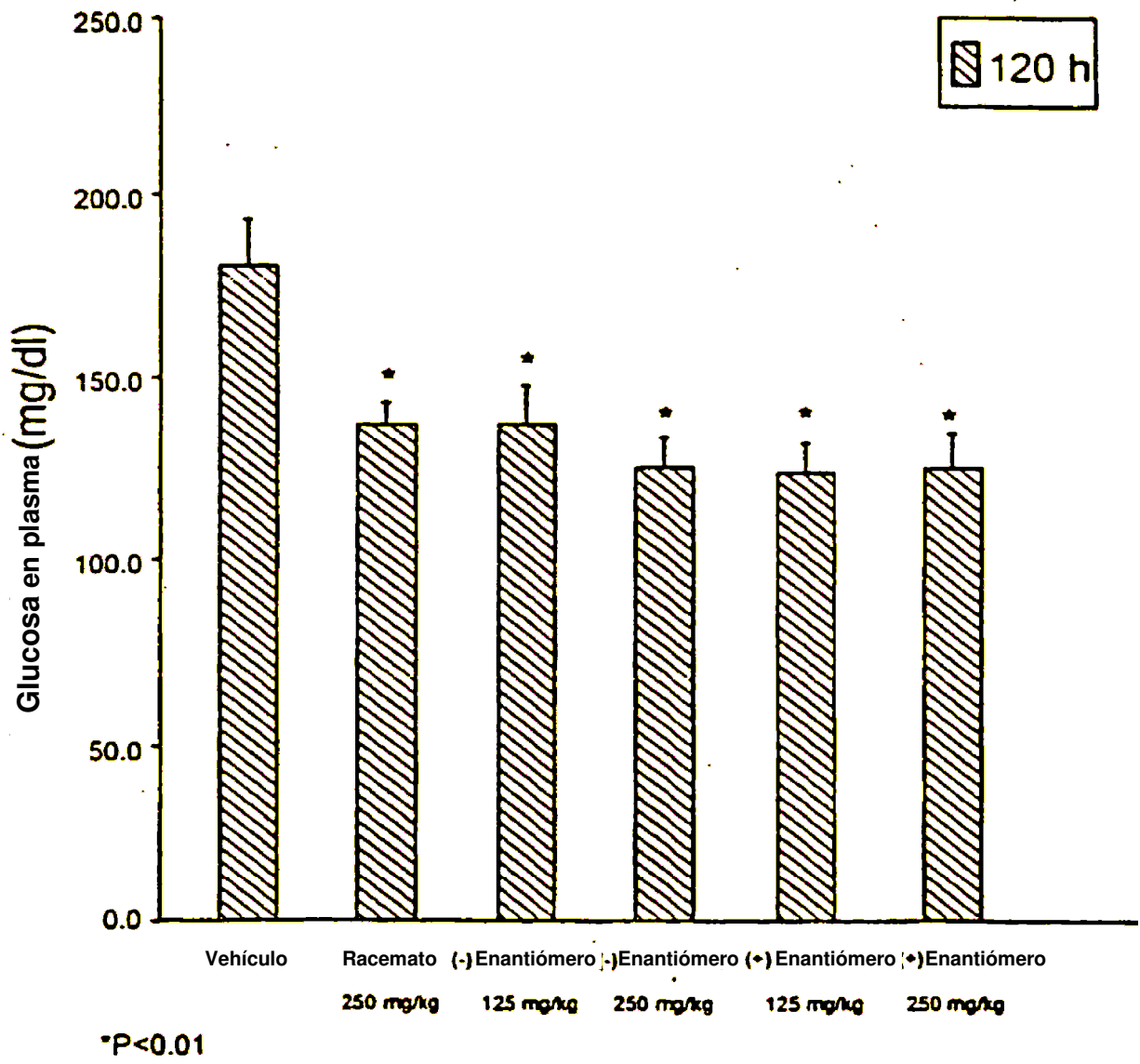


FIG. 5

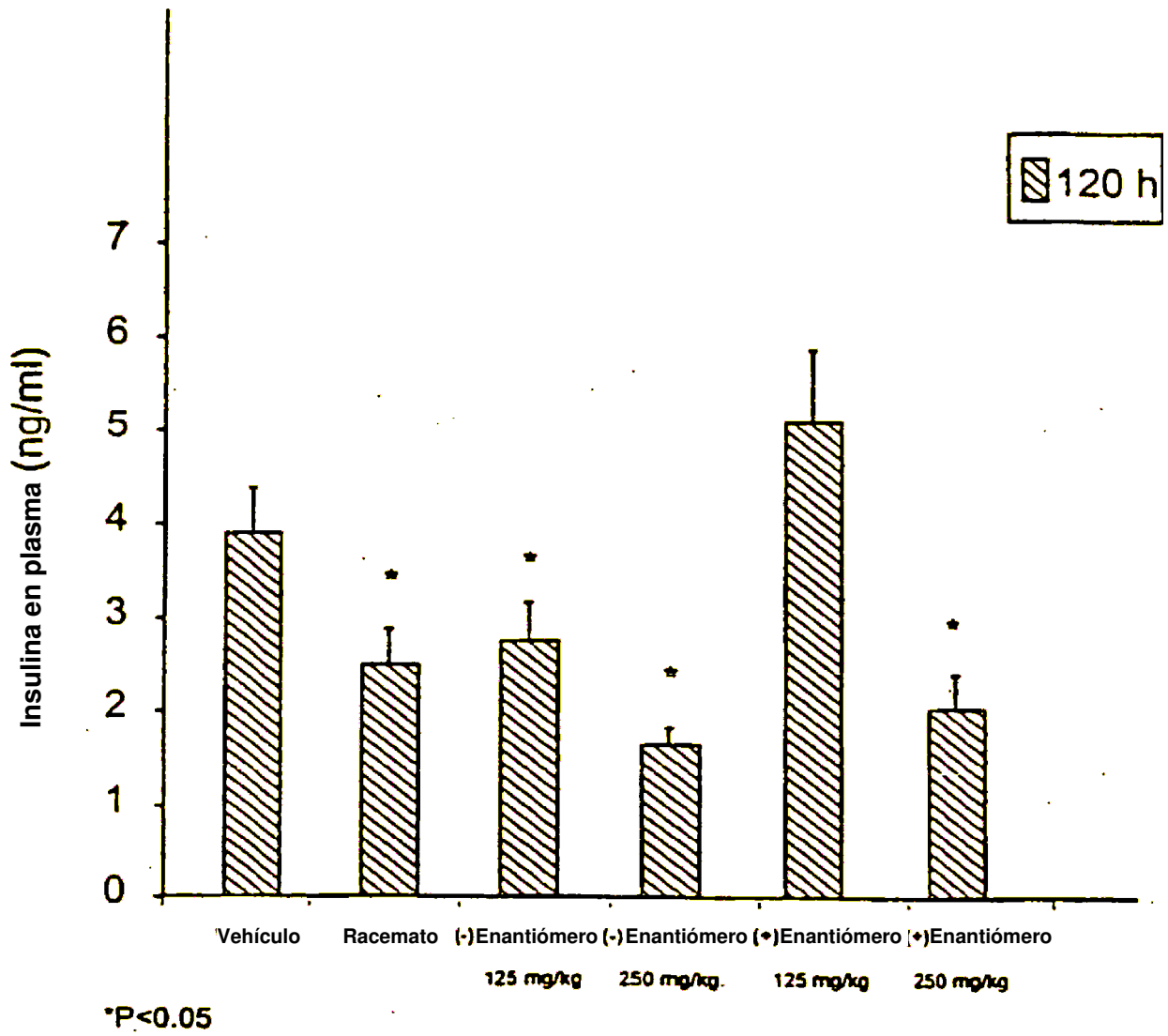


FIG. 6

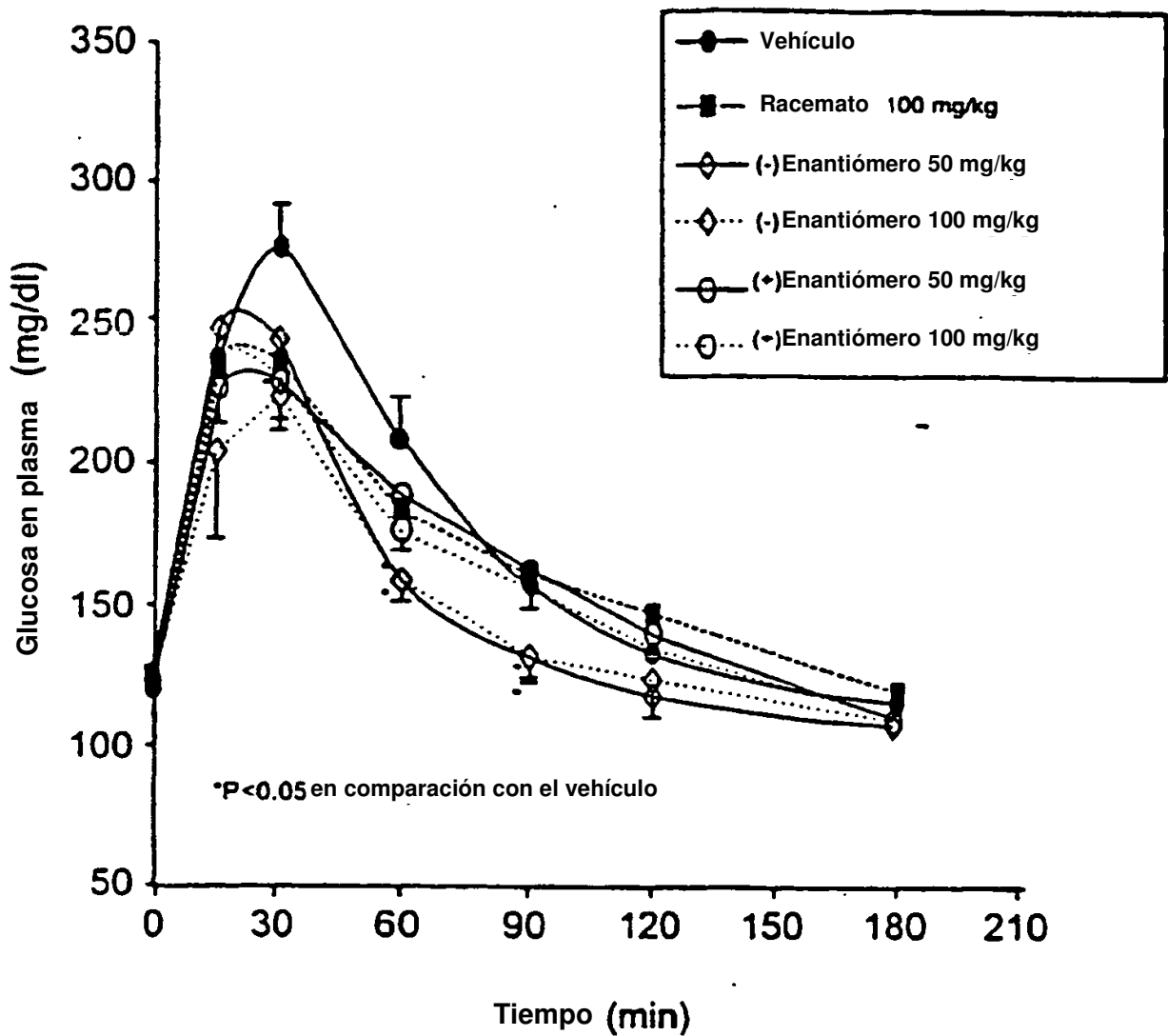


FIG. 7A

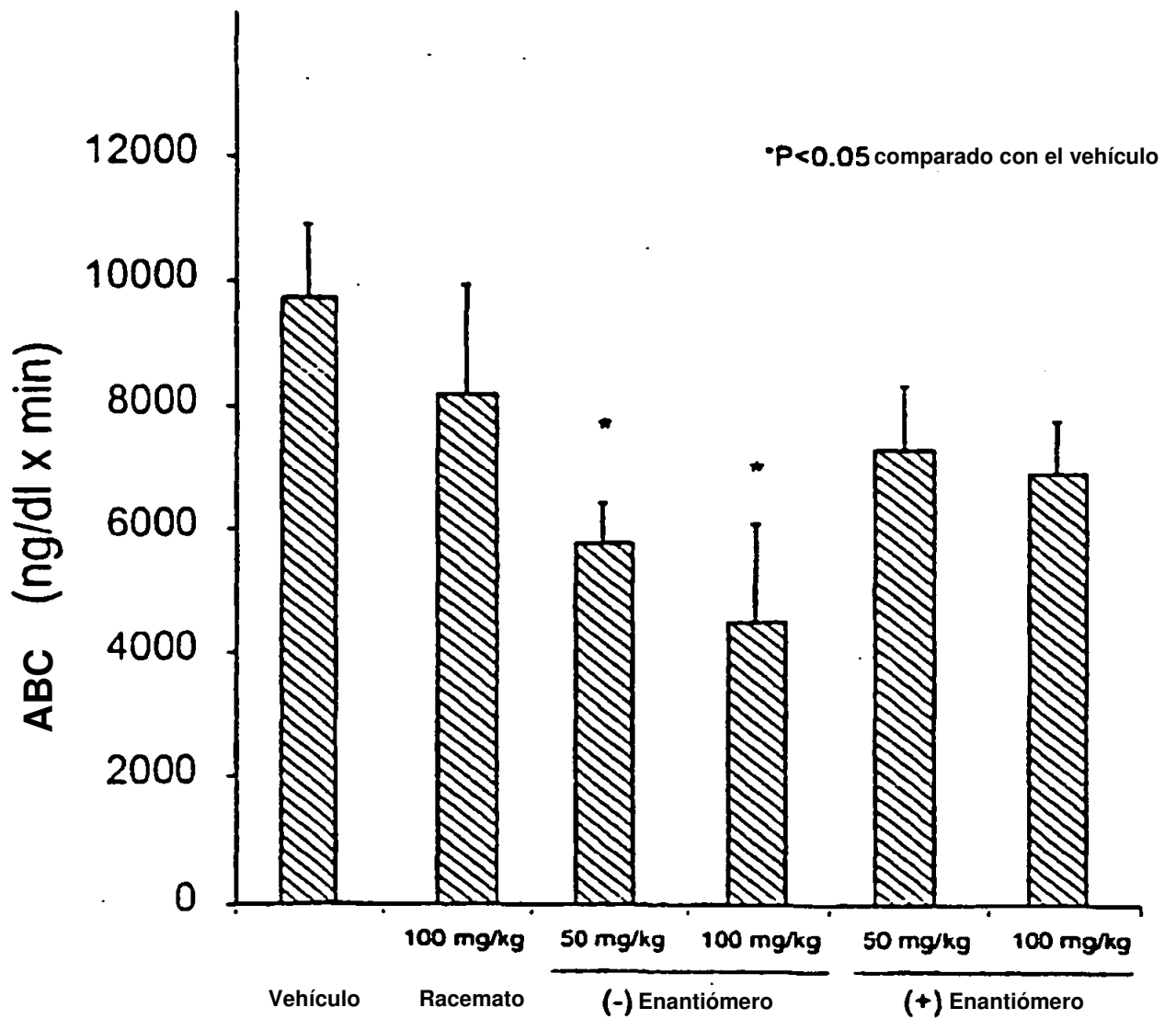
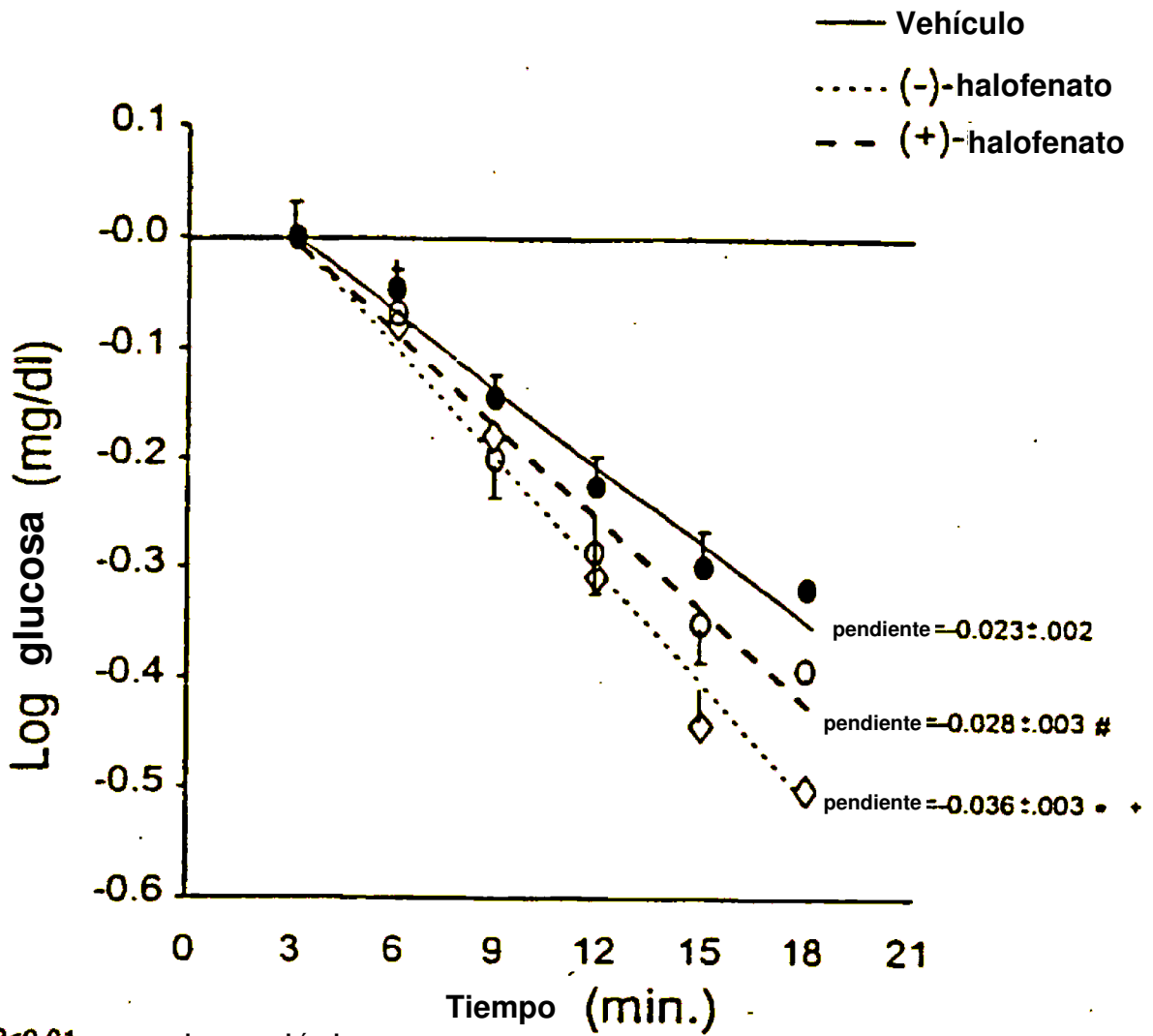


FIG. 7B



*P<0.01 comparado con vehículo
 †P<0.05 comparado con (+)-halofenato
 #P<0.083 comparado con vehículo

FIG. 8

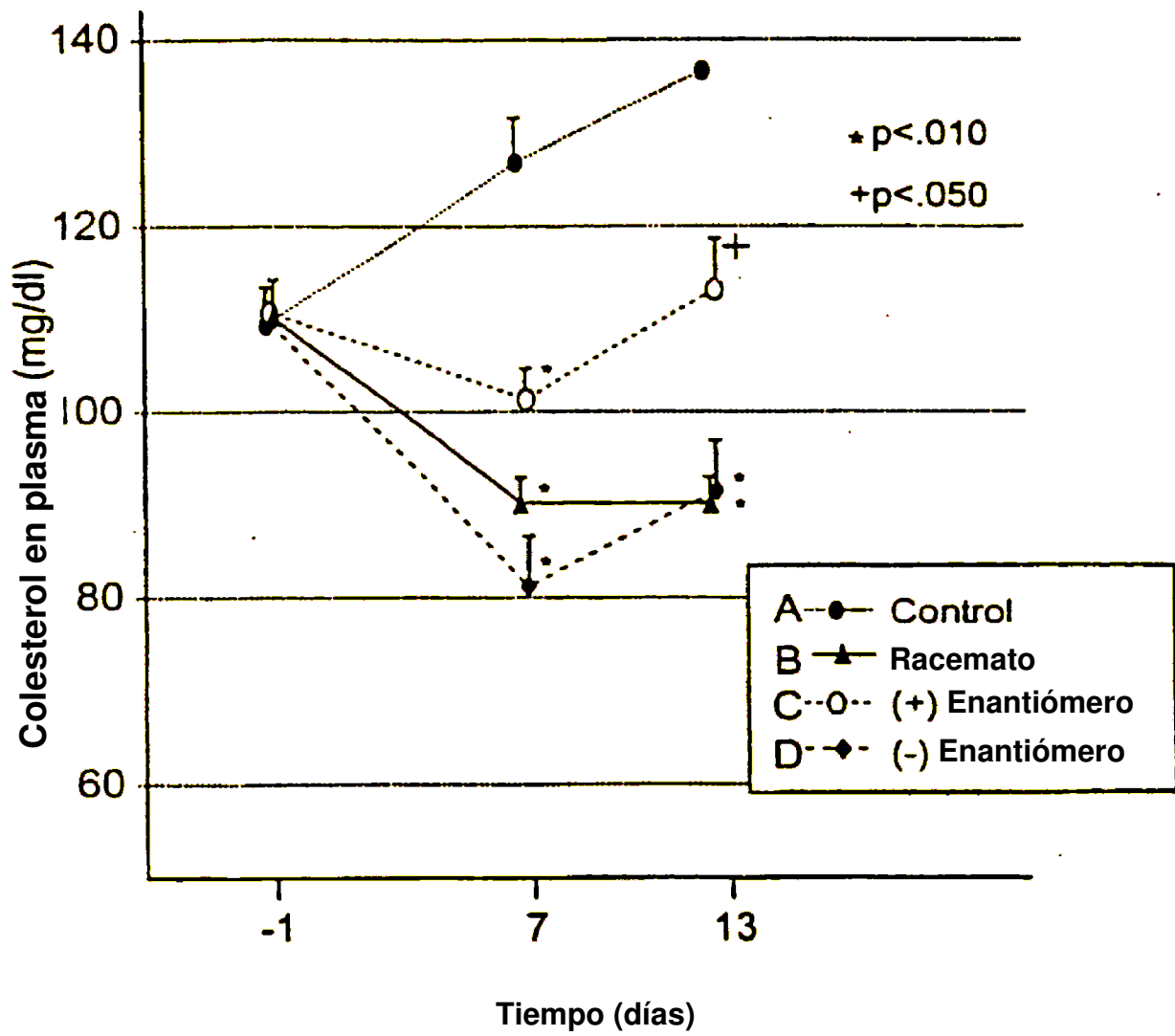


FIG. 9A

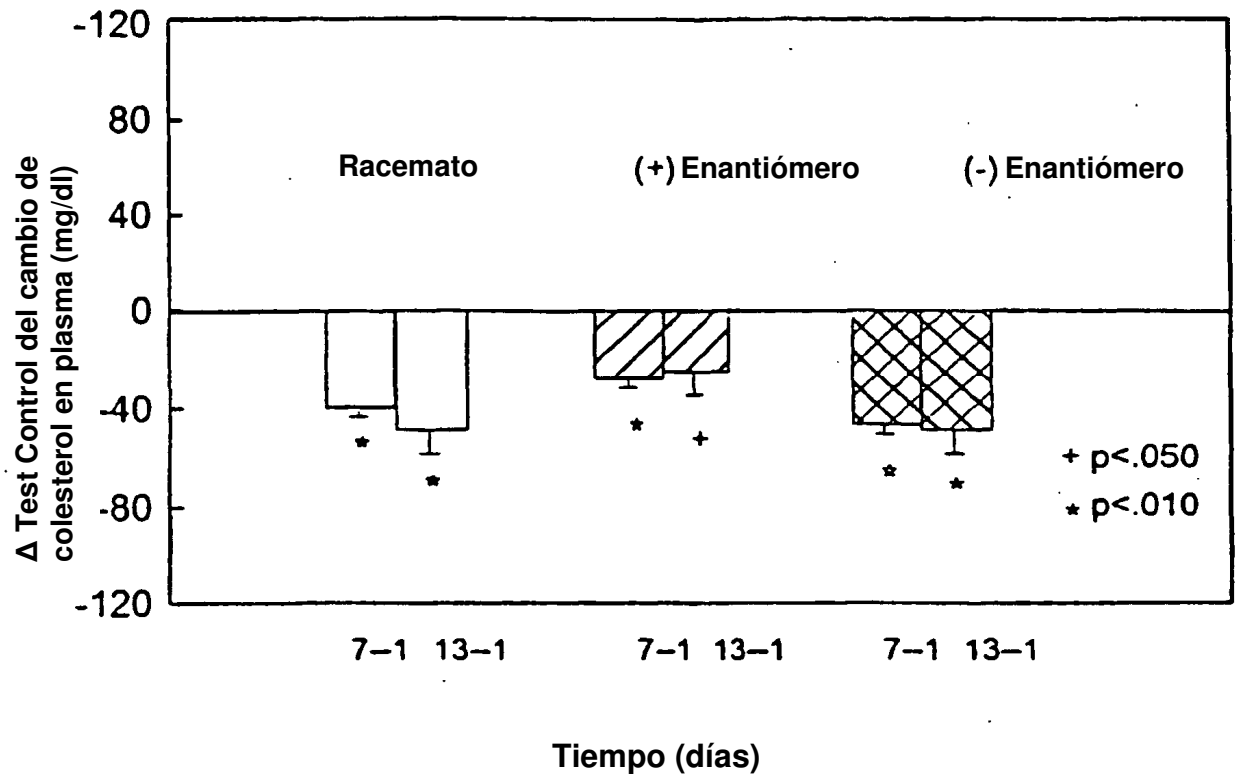


FIG. 9B

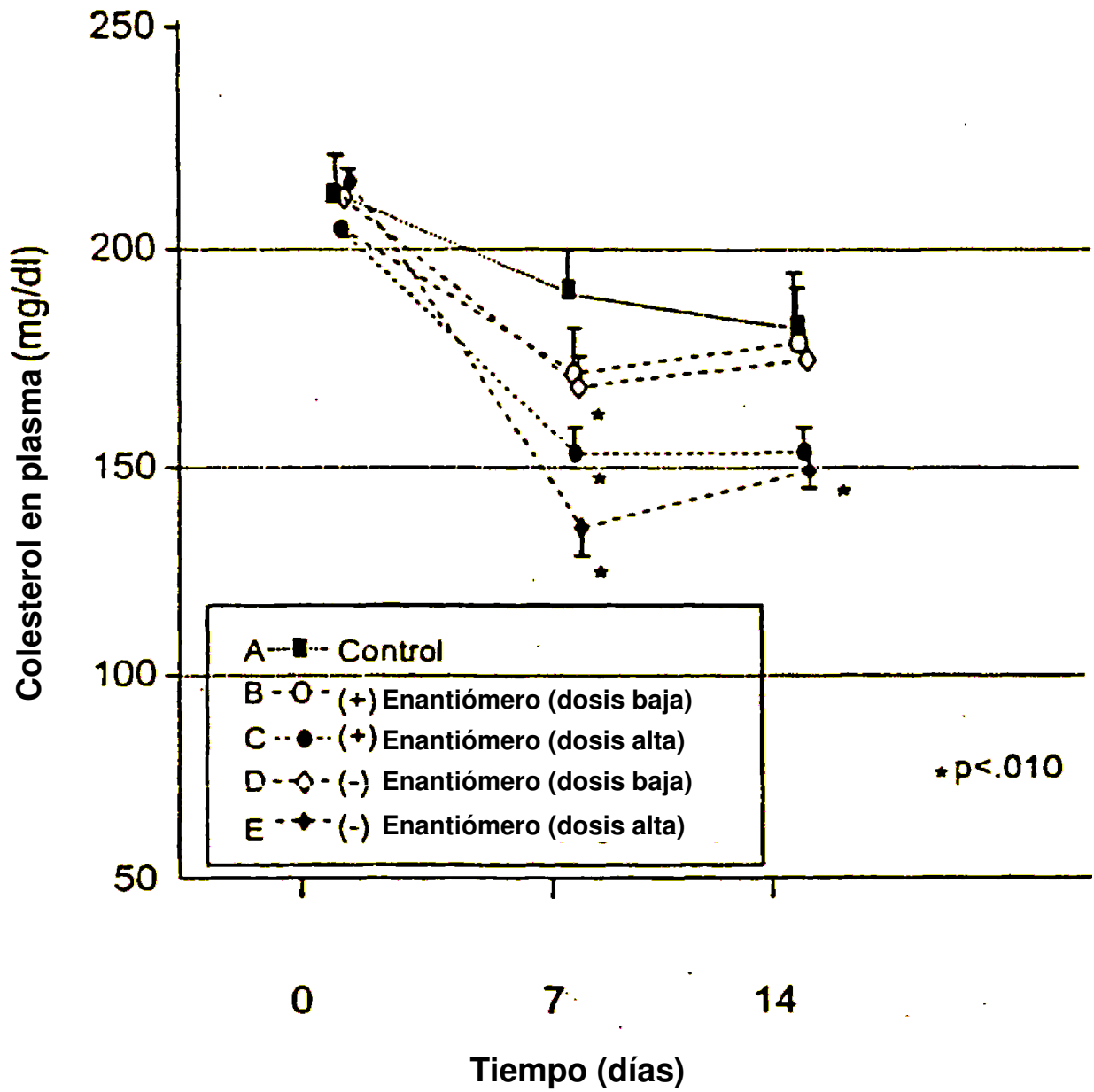


FIG. 10A

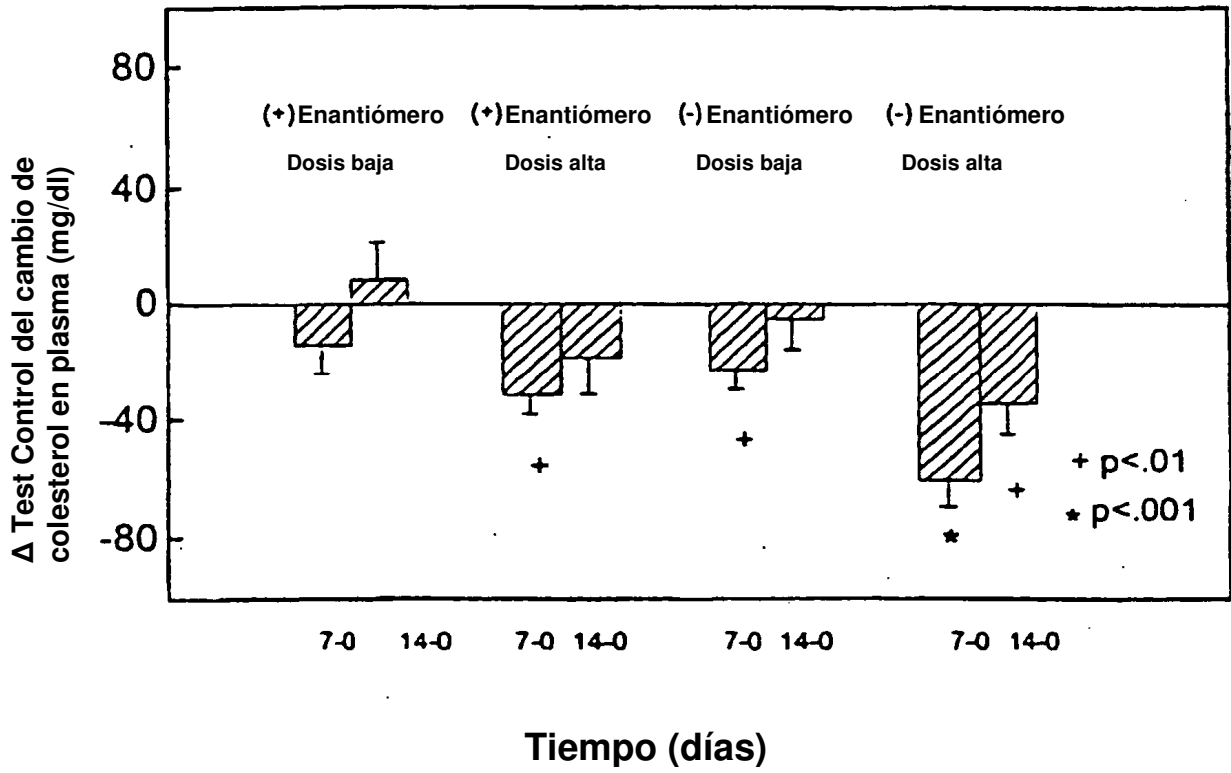


FIG. 10B

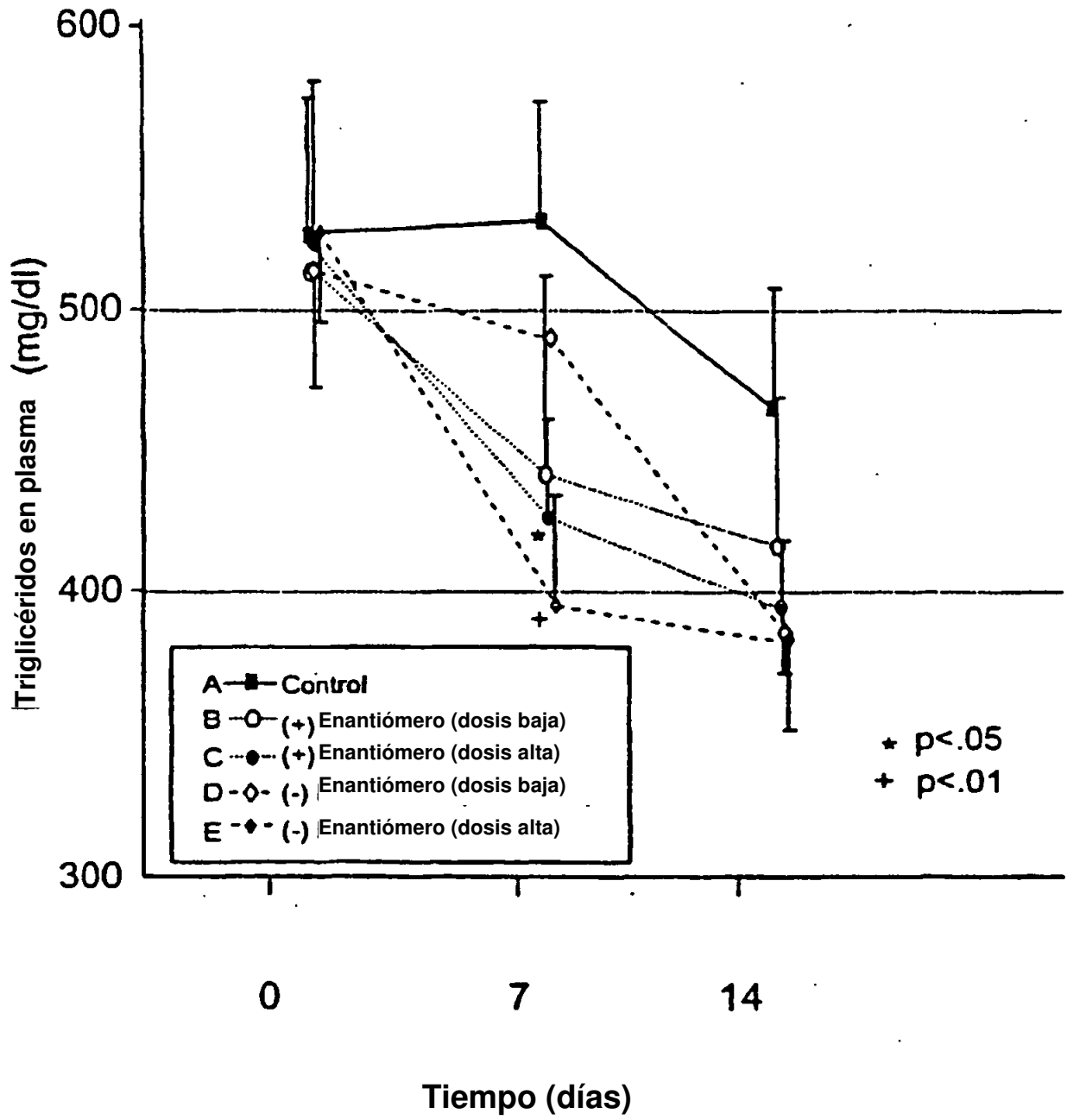


FIG. 11A

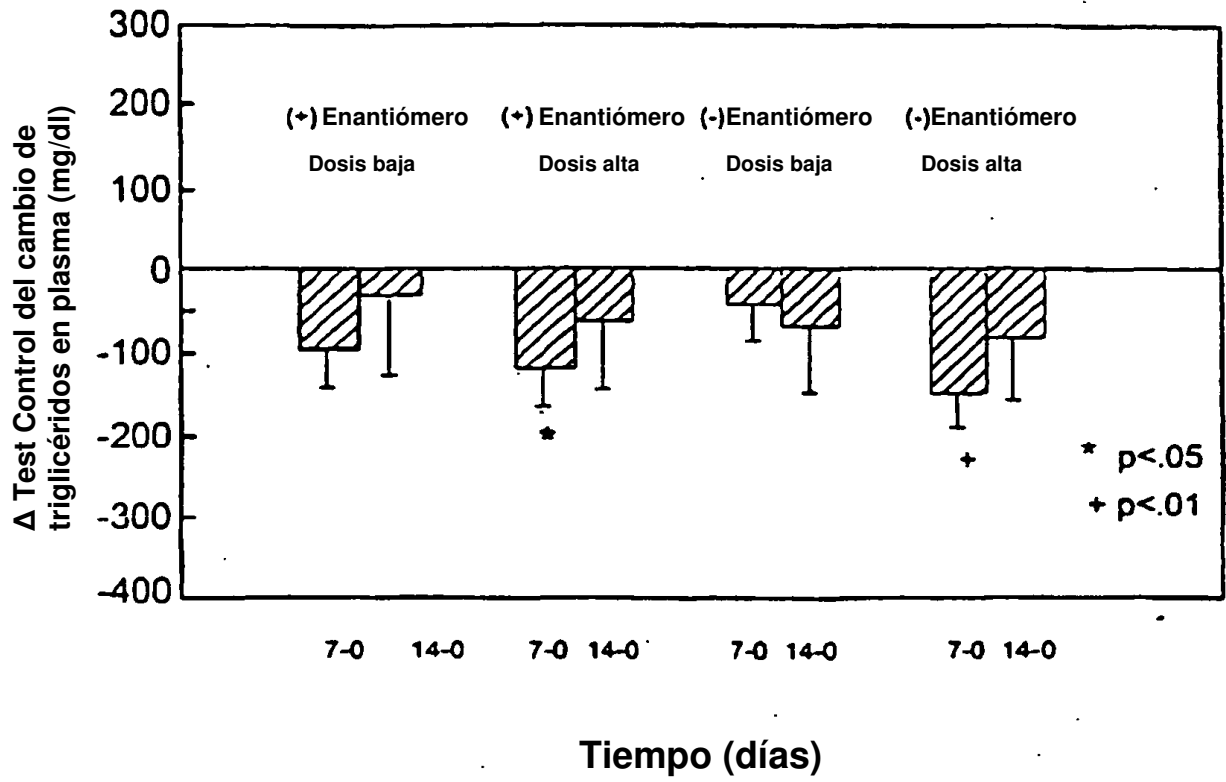


FIG. 11B

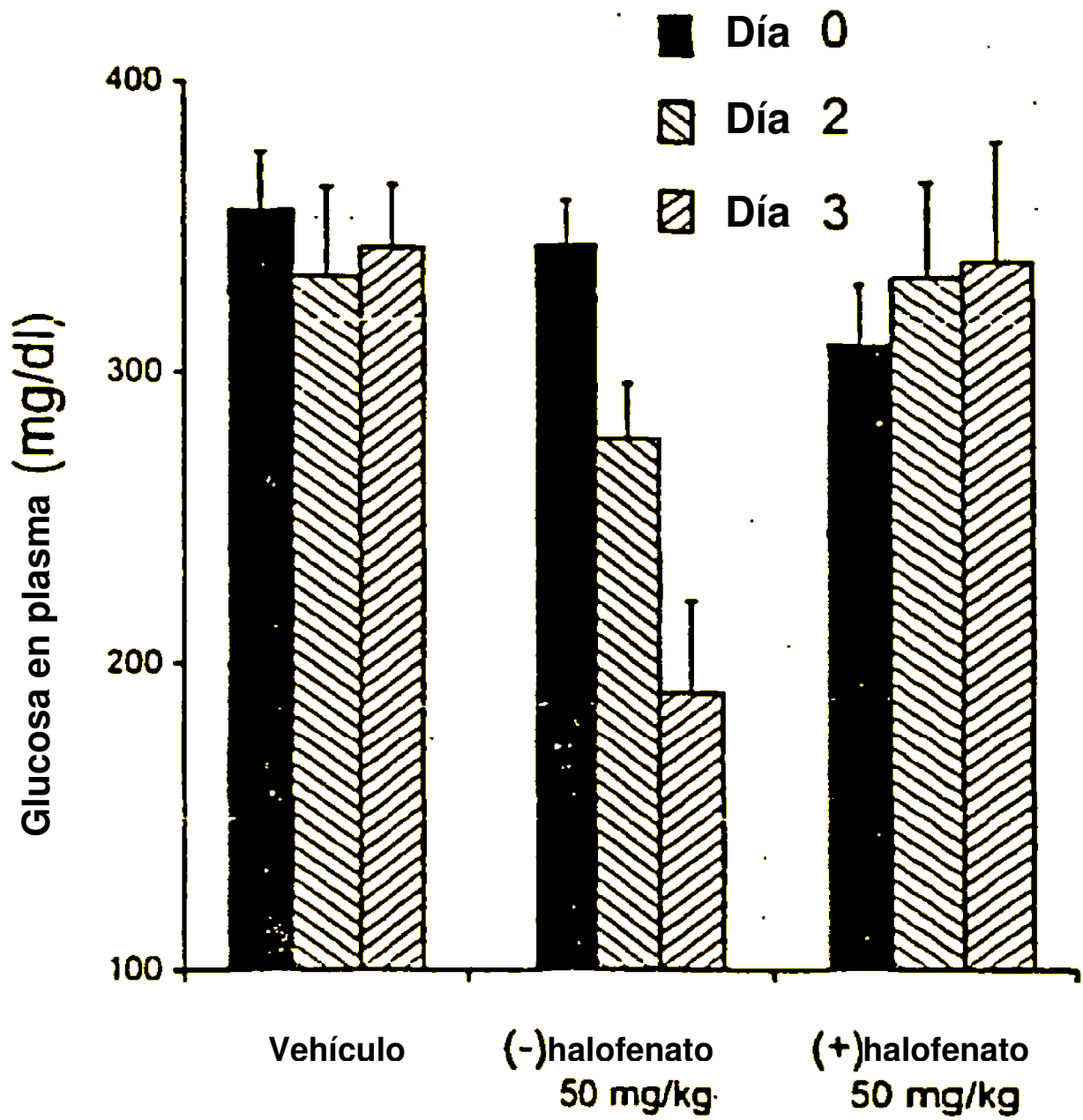


FIG. 12

FIG. 13

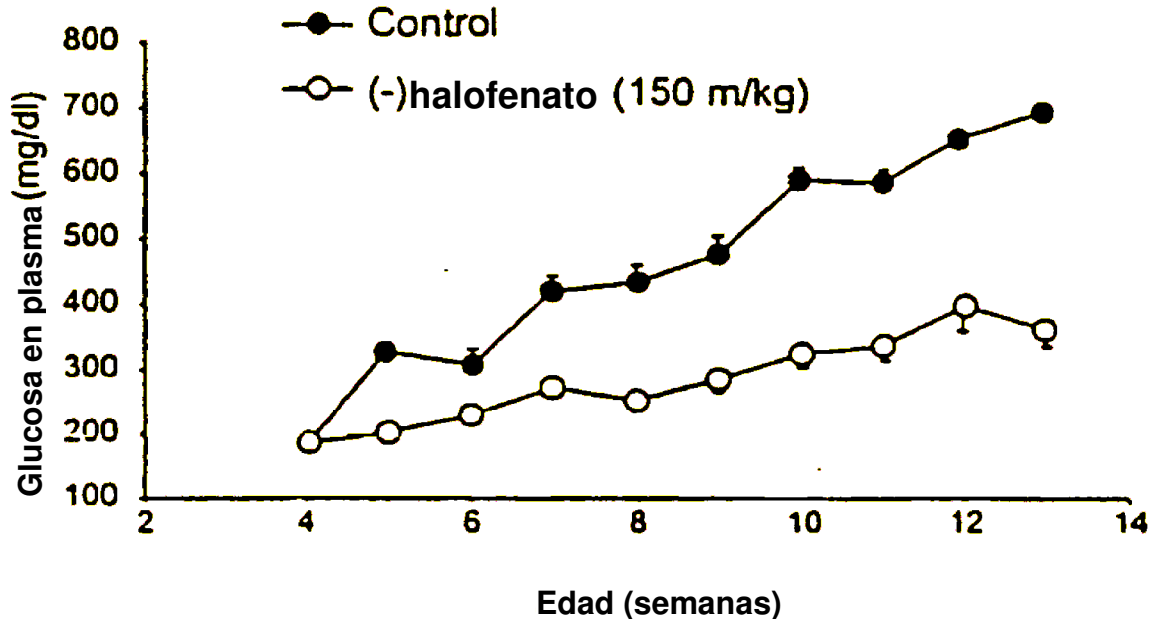


FIG. 14

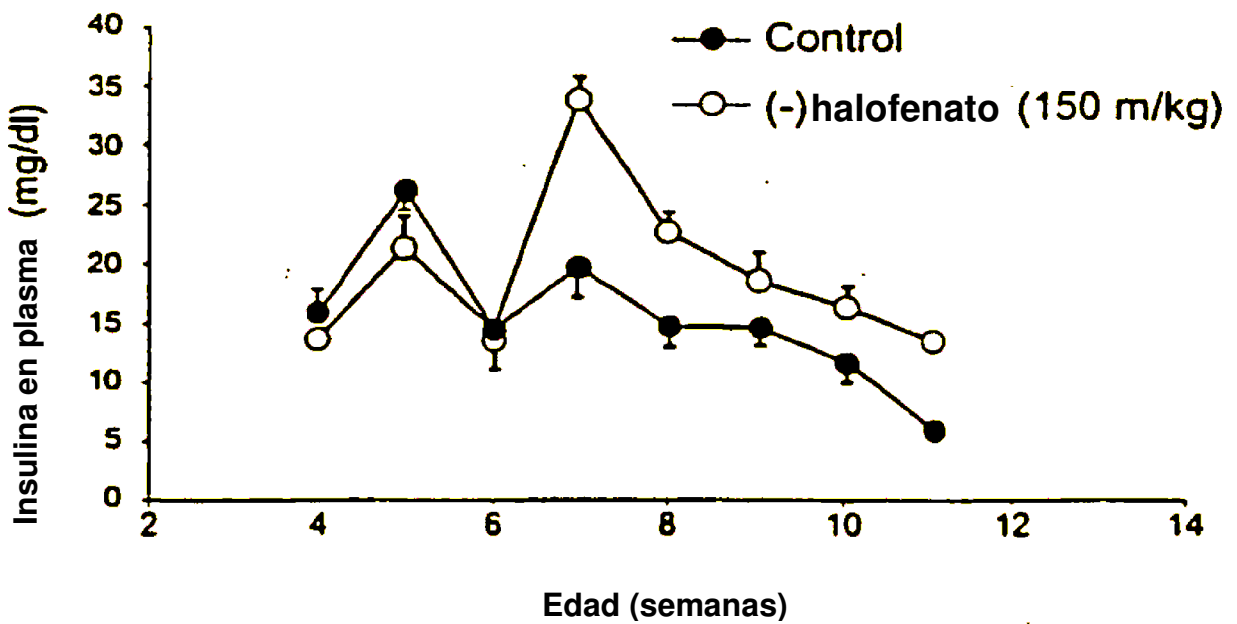


FIG. 15

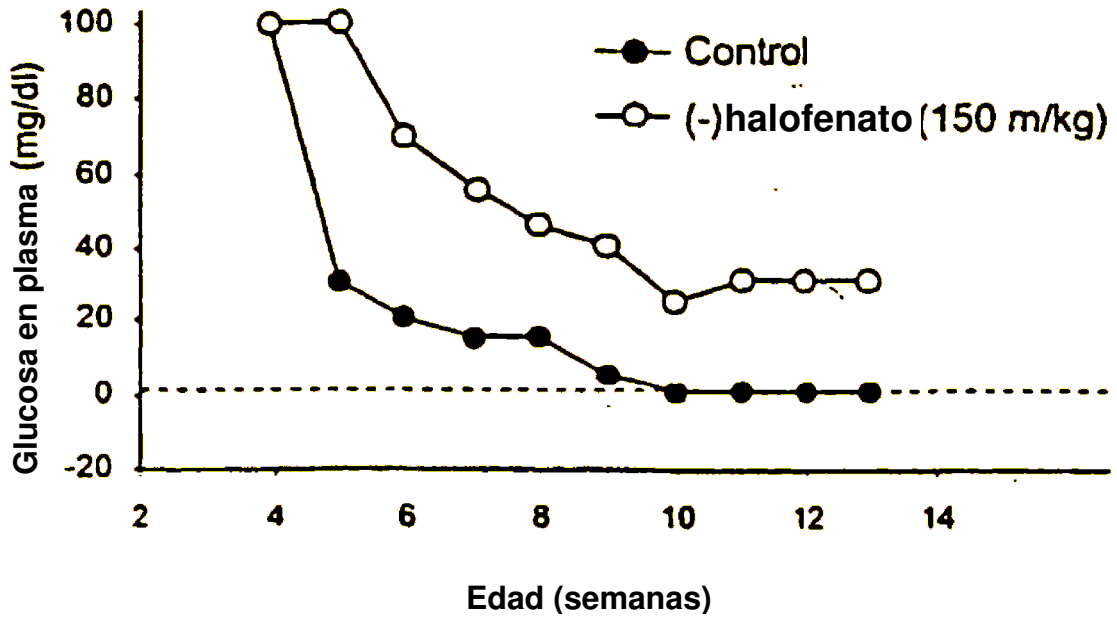


FIG. 16

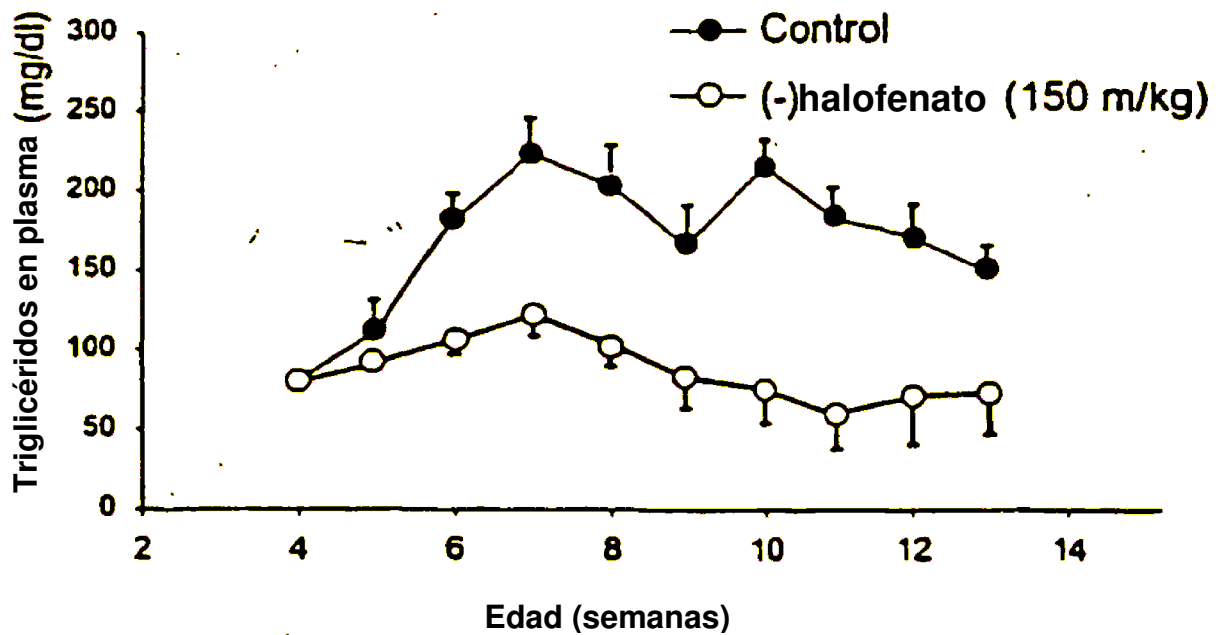


Figura 17

