

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 267**

51 Int. Cl.:

A61K 31/216 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 5/50 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.11.2001 E 01987124 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **17.09.2003 EP 1343493**

54 Título: **Uso de derivados del ácido (-)-(3-halometilfenoxi)-(4-halofenil) acético para el tratamiento de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la hiperuricemia**

30 Prioridad:

28.11.2000 US 724788

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

11.02.2013

73 Titular/es:

**METABOLEX, INC. (100.0%)
3876 BAY CENTER PLACE
HAYWARD, CA 94545, US**

72 Inventor/es:

**LUSKY, KENNETH, L.;
LUO, JIAN y
ZHAO, ZUCHUN**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 395 267 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

5 5 Uso de derivados del ácido (-)-(3-halometilfenoxi)-(4-halofenil) acético para el tratamiento de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la hiperuricemia

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

10 Esta solicitud reivindica el beneficio del número de serie de EE.UU. 09/724.788, presentada el 28 de noviembre de 2000.

10 **Campo de la invención**

15 La presente invención se refiere al uso de composiciones y derivados del ácido (-) (3-halometilfenoxi) (4-halofenil) acético en el tratamiento de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la hiperuricemia. Además se refiere a derivados del ácido (-) (3-halometilfenoxi) (4-halofenil) acético que son útiles para el tratamiento de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la hiperuricemia, como se define en las reivindicaciones.

15 **Antecedentes de la invención**

20 La diabetes mellitus, comúnmente denominada diabetes, se refiere a un proceso de enfermedad originado por múltiples factores causales y caracterizado por concentraciones elevadas de glucosa plasmática, denominadas hiperglucemia. Véase, por ejemplo, LeRoith, D. *et al.*, (ed.), *Diabetes Mellitus* (Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, PA EE.UU. 1996) y todas las referencias citadas en él. De acuerdo con la Asociación Estadounidense de Diabetes, se calcula que la diabetes mellitus afecta aproximadamente al 6% de la población mundial. La hiperglucemia incontrolada se asocia con una mortalidad aumentada y prematura debida al aumento del riesgo de enfermedades microvasculares y macrovasculares, incluidas nefropatías, neuropatías, retinopatías, hipertensión, cerebrovasculopatía y cardiopatía coronaria. Por lo tanto, el control de la homeostasis de la glucosa es un enfoque sumamente importante para el tratamiento de la diabetes.

30 Existen dos formas principales de diabetes: diabetes de tipo 1 (antiguamente denominada diabetes insulino dependiente o DMID); y diabetes de tipo 2 (antiguamente denominada diabetes no insulino dependiente o DMNID).

35 La diabetes de tipo 1 es el resultado de una deficiencia total de insulina, la hormona que regula la utilización de la glucosa. Esta deficiencia de insulina suele caracterizarse por la destrucción de células β dentro de los islotes de Langerhans del páncreas, lo que habitualmente de lugar a una deficiencia total de insulina. La diabetes de tipo 1 tiene dos formas: la diabetes mellitus mediada por inmunidad, que es consecuencia de una destrucción autoinmunitaria de las células β del páncreas mediada por células; y la diabetes mellitus idiopática, que se refiere a formas de la enfermedad con etiologías desconocidas.

40 La diabetes de tipo 2 es una enfermedad caracterizada por la resistencia a la insulina acompañada por una deficiencia de insulina, relativa más que total. La diabetes de tipo 2 puede variar desde una resistencia a la insulina predominante con deficiencia relativa de insulina, hasta una deficiencia de insulina predominante con algo de resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina es la capacidad disminuida de la insulina para ejercer su acción biológica en un amplio intervalo de concentraciones. En individuos resistentes a la insulina, el organismo segrega cantidades anormalmente altas de insulina para compensar este defecto. Cuando están presentes cantidades de insulina inadecuadas para compensar la resistencia a la insulina y controlar de forma adecuada los niveles de glucosa, se desarrolla un estado de intolerancia a la glucosa. En un número significativo de individuos, la secreción de insulina disminuye más y se eleva la concentración plasmática de glucosa, dando lugar al estado clínico de diabetes. La diabetes de tipo 2 puede deberse a una resistencia profunda a los efectos reguladores estimuladores de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa y los lípidos en los principales tejidos sensibles a la insulina: músculo, hígado y tejido adiposo. Esta reactividad de resistencia a la insulina da lugar a una activación por insulina insuficiente de la incorporación, oxidación y almacenamiento en el músculo de la glucosa y a la supresión inadecuada de la lipólisis en el tejido adiposo y de la producción y secreción de glucosa en el hígado. Frecuentemente, en la diabetes de tipo 2, los niveles de ácidos grasos libres son elevados en pacientes obesos y algunos no obesos y aumenta la oxidación de lípidos.

60 El desarrollo prematuro de aterosclerosis y el aumento de la tasa de enfermedades cardiovasculares y vasculares periféricas son rasgos característicos de pacientes con diabetes. La hiperlipidemia es un factor desencadenante importante para estas enfermedades. La hiperlipidemia es una afección caracterizada, en general, por un aumento anómalo de los lípidos séricos en el torrente sanguíneo y es un factor de riesgo importante en el desarrollo de aterosclerosis y cardiopatías. Para una revisión de trastornos del metabolismo de lípidos, véase, por ejemplo, Wilson, J. *et al.*, (ed.), *Disorders of Lipid Metabolism*, Capítulo 23, Textbook of Endocrinology, 9ª Edición, (W.B. Sanders Company, Filadelfia, PA EE.UU. 1998). Las lipoproteínas séricas son los transportadores para lípidos en la circulación. Se clasifican en función de su densidad: quilomicrones; lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL); lipoproteínas de densidad intermedia (IDL); lipoproteínas de baja densidad (LDL); y lipoproteínas de alta densidad

(HDL). La hiperlipidemia se clasifica habitualmente como hiperlipidemia primaria o secundaria. En general, la hiperlipidemia primaria está provocada por defectos genéticos, mientras que la hiperlipidemia secundaria, en general, está provocada por otros factores, tales como diversos estados de enfermedad, fármacos y factores alimenticios. De forma alternativa, la hiperlipidemia puede ser consecuencia de una combinación de causas tanto primarias como secundarias de hiperlipidemia. Las concentraciones de colesterol elevadas se asocian con una serie de estados de enfermedad, incluidos arteriopatía coronaria, angina de pecho, arteriopatía carotídea, apoplejías, arterioesclerosis cerebral y xantoma.

La dislipidemia, o concentraciones anómalas de lipoproteínas en el plasma sanguíneo, aparece con frecuencia entre los diabéticos y se ha demostrado que es uno de los principales contribuyentes al aumento de la incidencia de acontecimientos coronarios y muertes entre sujetos diabéticos (véase, por ejemplo, Joslin, E. *Ann. Chim. Med.* (1927) 5: 1061-1079). Los estudios epidemiológicos desde entonces han confirmado la relación y han mostrado un aumento de varias veces en muertes coronarias entre sujetos diabéticos en comparación con sujetos no diabéticos (véanse, por ejemplo, García, M. J. *et al.*, *Diabetes* (1974) 23: 105-11 (1974); y Laakso, M. y Lehto, S., *Diabetes Reviews* (1997) 5(4): 294-315). Se han descrito varias anomalías de lipoproteínas entre sujetos diabéticos (Howard B., *et al.*, *Artherosclerosis* (1978) 30: 153-162).

Estudios anteriores de los años 1970 han demostrado la eficacia del acetato de (4-clorofenil) (3-trifluorometilfenoxi) 2-acetamidoetilo racémico (también conocido como "halofenato") como un agente terapéutico potencial para tratar la diabetes de tipo 2, la hiperlipidemia y la hiperuricemia (véanse, por ejemplo, Bolhofer, W., EE.UU. 3.517.050; Jain, A. *et al.*, *N. Eng. J. Med.* (1975) 293: 1283-1286; Kudzma, D. *et al.*, *Diabetes* (1977) 25: 291-95; Kohl, E. *et al.*, *Diabetes Care* (1984) 7: 19-24; *McMahon, F.G. et al.*, *Univ. Mich. Med. Center J.* (1970) 36: 247-248; Simori, C. *et al.*, *Lipids* (1972) 7: 96-99; Morgan, J.P. *et al.*, *Clin. Pharmacol. Therap.* (1971) 12: 517-524, Aronow, W.S. *et al.*, *Clin. Pharmacol Ther* (1973) 14: 358-365 y Fanelli, G.M. *et al.*, *J. Pharm. Experimental Therapeutics* (1972) 180:377-396). En estos estudios anteriores, se observó el efecto del halofenato racémico sobre la diabetes al combinarlo con sulfonilureas. Se observó un efecto mínimo sobre la glucosa en pacientes con diabetes tratados con halofenato racémico solo. Sin embargo, se observaron efectos secundarios significativos, incluidas hemorragias gastrointestinales desde el estómago y úlceras pépticas (véase, por ejemplo, Friedberg, S.J. *et al.*, *Clin. res.* (1986) vol. 34, n.º 2: 682A).

Además, había algunos indicios de interacciones entre fármacos de halofenato racémico con agentes tales como sulfato de warfarina (también denominado 3-(alfa-acetonilbencil)-4-hidroxicumarina o Coumadin™ (Dupont Pharmaceuticals, E. I. Dupont de Nemours and Co., Inc., Wilmington, DE EE.UU.) (véase, por ejemplo, Vesell, E. S. y Passantanti, G.T., *Fed. Proc.* (1972) 31(2): 538). El Coumadin™ es un anticoagulante que actúa inhibiendo la síntesis de factores de coagulación dependientes de la vitamina K (que incluyen los factores II, VII, IX y X y las proteínas anticoagulantes C y S). Se cree que el Coumadin™ se metaboliza de forma estereoespecífica por enzimas microsómicas hepáticas (las enzimas del citocromo P450). Las isoenzimas del citocromo P450 implicadas en el metabolismo del Coumadin incluyen la 2C9, la 2C19, la 2C8, la 2C18, la 1A2 y la 3A4. Es probable que la 2C9 sea la forma principal de P450 hepático humano, que modula el metabolismo de fármacos *in vivo* de varios fármacos, incluida la actividad anticoagulante del Coumadin™ (véase, por ejemplo, Miners, J. O. *et al.*, *Bri. J. Clin. Pharmacol.* (1998) 45: 525-538).

Los fármacos que inhiben el metabolismo del Coumadin™ dan lugar a una disminución adicional de los factores de coagulación dependientes de la vitamina K que evita la coagulación más de lo deseado en pacientes que reciben un tratamiento de ese tipo (es decir, pacientes en riesgo de embolia pulmonar o cerebral por coágulos sanguíneos en las extremidades inferiores, el corazón u otros sitios). Frecuentemente, la simple reducción de la dosis de anticoagulante es difícil, ya que es necesario mantener una anticoagulación adecuada para evitar que se formen coágulos. El aumento de la anticoagulación por la interacción entre fármacos da lugar a un riesgo significativo para dichos pacientes con la posibilidad de hemorragias graves de lesiones en tejidos blandos, sitios gastrointestinales (es decir, úlceras gástricas o duodenales) u otras lesiones (es decir, aneurisma aórtico). Una hemorragia ante demasiada anticoagulación constituye una emergencia médica y puede dar como resultado la muerte si no se trata inmediatamente con un tratamiento adecuado.

También se sabe que el citocromo P450 2C9 participa en el metabolismo de varios otros fármacos usados comúnmente, incluidos la dilantina, sulfonilureas, tales como la tolbutamida, y varios agentes antiinflamatorios no esteroideos, tales como el ibuprofeno. La inhibición de esta enzima tiene el potencial de provocar otros efectos adversos relacionado con interacciones entre fármacos, además de las descritas anteriormente para el Coumadin™ (véase, por ejemplo, Pelkonen, O. *et al.*, *Xenobiotica* (1998) 28: 1203-1253; Linn, J.H. y Lu, A.Y., *Clin. Pharmacokinet.* (1998) 35(5): 361-390).

Se necesitan soluciones para las dificultades y deficiencias anteriores antes de que el halofenato llegue a ser eficaz para el tratamiento rutinario de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la hiperuricemia. La presente invención satisface esta y otras necesidades proporcionando compuestos, composiciones y su uso para el alivio de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la hiperuricemia, al mismo tiempo que presenta un mejor perfil de efectos adversos.

El documento WO 00/74666 es un documento en virtud del artículo 54(3) del CEP y divulga el uso de composiciones y derivados del ácido (-) (3-trihalometilfenoxi) (4-halofenil) acético.

El documento US 3517050 divulga ésteres y amidas del ácido (3-trifluorometilfenoxi) (4-halofenil) acético.

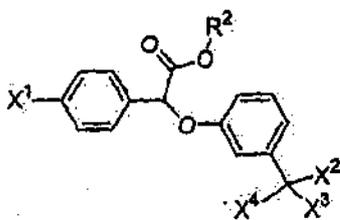
El documento de McMahon F.G., Jain A., Ryan J.R., Hague D., "Some effects of MK-185 on lipid and uric acid metabolism in man", Univ. Mich. Med. Center J., vol. 36, 1970, páginas 247-248, divulga la capacidad del (4-clorofenil) (3-trifluorometil fenoxi) acetato de 2-acetoamidoetilo para disminuir los lípidos séricos en 10 pacientes con hiperlipoproteinemia de tipo III y IV.

El documento de Feldman E.B. *et al.*, "Insulin sensitivity in hypertriglyceridemia: induction by combined triglyceride and uric acid lowering," Clinical Research, (1975) 23/1 (43A), estudió las interrelaciones de las concentraciones en circulación de lípidos, glucosa y ácido úrico y su control por insulina durante el tratamiento a largo plazo de 10 pacientes con hipertriglicidemia de tipo IV con halofenato.

Sumario de la invención

De acuerdo con la presente invención se proporciona una composición farmacéutica como se describe en las reivindicaciones.

Tales composiciones comprenden un compuesto de fórmula II:



(II)

en la que R^2 es un miembro seleccionado del grupo que consiste en alquilo cíclico C_1-C_8 , alqueno C_2-C_5 y alquino C_2-C_5 , en el que los grupos están sustituidos opcionalmente con uno o más átomos de halógeno; fenilo, naftilo y piridilo, en el que los grupos están sustituidos opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C_1-C_4 ; alcoxi C_1-C_4 , $-NO_2$, $-S(O)_m$ (alquilo C_1-C_5), $-OH$, $-NR^3R^4$, $-CO_2R^5$, $-NR^3COR^4$, $-NR^3CONR^3R^4$ y $-C_vF_w$; m es de 0 a 2; v es de 1 a 3; w es de 1 a $(2v + 1)$. R^3 y R^4 son independientemente H, alquilo C_1-C_5 , fenilo o bencilo. R^5 es alquilo C_1-C_5 o NR^3R^4 .

Los grupos X^1 , X^2 , X^3 y X^4 tienen los significados: X^1 es un halógeno; y X^2 , X^3 y X^4 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que las composiciones contienen al menos el 90 % en peso del estereoisómero (-) del compuesto y el 10 % en peso o menos del estereoisómero (+) del compuesto.

La presente divulgación proporciona además modulación de la resistencia a la insulina en un mamífero mediante la administración al mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz del estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula II.

La presente divulgación proporciona además alivio de la hiperlipidemia en un mamífero mediante la administración al mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula II.

La presente divulgación proporciona además modulación de la hiperuricemia en un mamífero mediante la administración al mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula II.

La presente divulgación también proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas. Los compuestos son de fórmula II. Las composiciones farmacéuticas comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula II.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra la inhibición de la actividad del citocromo P450 2C9 (CYP2C9) por ácido halofénico racémico, ácido (-) halofénico y ácido (+) halofénico. Se midió la hidroxilación de la tolbutamida en presencia de concentraciones crecientes de estos compuestos. El ácido halofénico racémico inhibió la actividad del CYP 2C9 con

una CI50 de 0,45 μ M y el ácido (+) halofénico inhibió el CYP 2C9 con una CI50 de 0,22 μ M. Por el contrario, el ácido (-) halofénico fue 20 veces menos potente, con una CI50 aparente de 3,5 μ M.

5 La figura 2 muestra el curso temporal de la disminución de glucosa tras una única dosis oral de halofenato racémico, enantiómero (-) de halofenato o enantiómero (+) de halofenato a 250 mg/kg en un ratón ob/ob diabético. El enantiómero (-) mostró el comienzo de la acción más rápido y la duración de la acción más prolongada. La disminución de glucosa fue significativa ($p < 0,05$) para el enantiómero (-) en comparación con el control para todos los puntos desde 3 hasta 24 horas. El halofenato racémico y el enantiómero (+) también fueron significativos ($p < 0,05$) para todos los puntos desde 4,5 hasta 24 horas. La glucosa plasmática a las 24 horas fue de $217 \pm 16,4$ mg/dl en animales tratados con el enantiómero (-), en comparación con $306 \pm 28,5$ mg/dl y $259,3 \pm 20,8$ mg/dl para animales tratados con el enantiómero (+) y el racemato, respectivamente. La glucosa plasmática en los controles tratados con vehículo fue de $408 \pm 16,2$ mg/dl a las 24 horas. El enantiómero (-) fue más eficaz y significativamente diferente ($p < 0,05$) del enantiómero (+), en los puntos temporales tanto a las 3 horas como a las 24 horas.

15 La figura 3 muestra la capacidad del halofenato racémico y los enantiómeros tanto (-) como (+) de halofenato para disminuir la glucosa plasmática en ratones ob/ob diabéticos tras la administración oral diaria. El racemato se administró a una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros se administraron a dosis de 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día. Se observaron disminuciones significativas en las concentraciones de glucosa con relación a los animales de control en animales tratados con halofenato racémico y con los enantiómeros tanto (-) como (+). A la dosis baja (125 mg/kg) de tratamiento con los enantiómeros (-) y (+), el enantiómero (-) fue significativo a las 6, 27 y 30 horas, mientras que el enantiómero (+) fue significativo sólo a las 6 y a las 27 horas.

25 La figura 4 muestra las concentraciones plasmáticas de insulina en los ratones ob/ob tratados con halofenato racémico y los enantiómeros tanto (-) como (+) de halofenato en ratones ob/ob diabéticos tras la administración oral diaria. El racemato se administró a una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros se administraron a dosis de 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día. Con relación al control de vehículo, las insulinas fueron más bajas en los animales tratados con el racemato o cualquiera de los enantiómeros de halofenato. A la dosis alta, el mayor grado de reducción de la insulina plasmática se observó a las 27 y a las 30 horas en animales tratados con los enantiómeros tanto (-) como (+) de halofenato tras dos días de tratamiento.

30 La figura 5 muestra concentraciones plasmáticas de glucosa tras un ayuno de una noche en ratones ob/ob diabéticos tras un tratamiento de 5 días con vehículo, halofenato racémico a 250 mg/kg/día, enantiómero (-) de halofenato a 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día o enantiómero (+) de halofenato a 125 mg/kg/día o 250 mg/kg/día. Los animales de control eran hiperglucémicos con concentraciones plasmáticas de glucosa de $185,4 \pm 12,3$ mg/dl. Todos los animales tratados con halofenato mostraron reducciones significativas ($p < 0,01$) de glucosa. Las dosis altas de ambos enantiómeros redujeron la glucosa hasta concentraciones casi normales a $127,3 \pm 8,0$ mg/dl y $127,2 \pm 9,7$ mg/dl para animales tratados con el enantiómero (-) y el enantiómero (+), respectivamente.

40 La figura 6 muestra las concentraciones plasmáticas de insulina tras un ayuno de una noche en ratones ob/ob diabéticos tratados con vehículo, halofenato racémico a 250 mg/kg/día, enantiómero (-) a 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día o enantiómero (+) de halofenato a 125 mg/kg/día o 250 mg/kg/día durante 5 días. Se observaron concentraciones plasmáticas de insulina significativamente más bajas en animales que recibieron ambas dosis de enantiómero (-). La dosis baja de enantiómero (+) de halofenato no redujo la insulina plasmática, aunque la dosis alta del enantiómero (+) dio lugar a una disminución de la insulina plasmática.

45 La figura 7A muestra concentraciones plasmáticas de glucosa tras una exposición oral a glucosa en ratas Zucker obesas, un modelo de resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa. Estos animales se trataron con control de vehículo, halofenato racémico, (-) halofenato o (+) halofenato 5,5 horas antes de la exposición a la glucosa. El racemato se administró a 100 mg/kg y ambos enantiómeros se administraron a 50 y 100 mg/kg. En los animales de control, la glucosa se elevó hasta >250 mg/dl 30 minutos después de la exposición, una clara indicación de intolerancia a la glucosa. La glucosa plasmática se redujo en ratas que habían recibido el halofenato racémico, especialmente entre 30 - 60 minutos después de la exposición. Los animales que recibieron el (-) halofenato a 100 mg/kg presentaron el grado mayor de disminución de la glucosa de todos los animales tratados. Los animales tratados con el (-) halofenato presentaron concentraciones de glucosa más bajas que se mantenían a los 90-120 minutos, en comparación con las ratas tratadas con el racemato o el (+) halofenato. La figura 7B compara el incremento del área 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 fue menor en los otros grupos con relación al control, los cambios no fueron significativos.

60 La figura 8 muestra los resultados de una prueba de tolerancia a la insulina corta en ratas Zucker obesas que se trataron con un control de vehículo, (-) halofenato (50 mg/kg/día) o (+) halofenato (50 mg/kg/día) durante 5 días. Esta prueba es una medida de la sensibilidad a la insulina de los animales de prueba, representando la pendiente de disminución de la glucosa una medida directa de la reactividad a la insulina. Los animales tratados con (-) halofenato fueron significativamente más sensibles a la insulina que los animales tratados con vehículo ($p < 0,01$) o los tratados con halofenato ($p < 0,05$).

5 La figura 9A muestra concentraciones plasmáticas de colesterol en ratas Zucker obesas diabéticas tratadas durante 13 días con halofenato racémico, enantiómero (-) o enantiómero (+) a 50 mg/kg/día, 25 mg/kg/día o 25 mg/kg/día, respectivamente, con relación a un grupo de control tratado con vehículo. En los animales tratados tanto con el enantiómero (-) como con el racemato, el colesterol plasmático disminuyó con el tratamiento. El colesterol en los animales tratados con enantiómero (+) permaneció relativamente constante, mientras que el colesterol se elevó en los animales de control. La figura 9B compara las diferencias en el colesterol plasmático entre el grupo de control y los grupos tratados. El enantiómero (-) fue la más activa de la especies probadas.

10 La figura 10A muestra concentraciones plasmáticas de colesterol en ratas Zucker obesas diabéticas tratadas durante 14 días bien con enantiómero (-) o bien con enantiómero (+) de halofenato bien a 12,5 mg/kg/día (dosis baja) o bien 37,5 mg/kg/día (dosis alta) con relación a un grupo de control tratado con vehículo. En los animales tratados con la dosis alta, el enantiómero (-) dio lugar al mayor grado de disminución del colesterol. La figura 10B compara las diferencias en el colesterol plasmático entre el grupo de control y los grupos tratados. Existieron diferencias significativas en los animales tratados con el enantiómero (-) después de 7 días a la dosis baja y después tanto de 7 como de 14 días a la dosis alta. El enantiómero (+) mostró significación sólo después de 7 días de tratamiento a la dosis alta.

20 La figura 11A muestra concentraciones plasmáticas de triglicéridos en ratas Zucker obesas diabéticas tratadas bien con enantiómero (-) o bien con enantiómero (+) bien a 12,5 mg/kg/día (dosis baja) o bien a 37,5 mg/kg/día (dosis alta) con relación a un grupo de control tratado con vehículo. Los animales tratados con la dosis alta del enantiómero (-) presentaron las concentraciones de triglicéridos más bajas para todos los grupos de tratamiento. La figura 11B compara las diferencias en los triglicéridos plasmáticos entre el grupo de control y los tratados. A los 7 días, la dosis alta de los enantiómeros tanto (-) como (+) mostró una disminución significativa de los triglicéridos plasmáticos.

25 La figura 12 muestra concentraciones plasmáticas de glucosa en ratas Zucker obesas diabéticas tratadas con vehículo, (-) halofenato o (+) halofenato en el día 0, el día 2 y el día 3. El tratamiento con (-) halofenato redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa en comparación con los animales tratados con vehículo.

30 La figura 13 muestra concentraciones plasmáticas de glucosa en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db frente a las de un grupo tratado con (-) halofenato. Las concentraciones plasmáticas de glucosa en el grupo de control aumentaron progresivamente a medida que envejecieron los animales, mientras que el aumento de las concentraciones plasmáticas de glucosa en el grupo tratado con (-) halofenato se evitó o se retrasó significativamente.

La figura 14 muestra concentraciones plasmáticas de insulina en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db frente a las de un grupo tratado con (-) halofenato. El tratamiento con (-) halofenato mantuvo la concentración plasmática de insulina, mientras que la insulina plasmática en el grupo de control disminuyó progresivamente.

40 La figura 15 muestra el porcentaje de ratones no diabéticos en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db frente al de un grupo tratado con (-) halofenato. Aproximadamente el 30 % de los ratones del grupo tratado con (-) halofenato no desarrollaron diabetes (concentraciones plasmáticas de glucosa <250 mg/dl), mientras que todo el grupo de control lo hizo antes de las 10 semanas de edad.

45 La figura 16 muestra concentraciones plasmáticas de triglicéridos en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db frente a las de un grupo tratado con (-) halofenato. El tratamiento con (-) halofenato alivió la hiperlipidemia, mientras que no se observó alivio en el grupo de control.

50 La figura 17 muestra el efecto del (-) halofenato y el (+) halofenato sobre las concentraciones plasmáticas de ácido úrico en ratas con hiperuricemia inducida por ácido oxónico. La administración oral de (-) halofenato redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de ácido úrico. El (+) halofenato también redujo las concentraciones plasmáticas de ácido úrico, pero no fue estadísticamente significativo.

55 La figura 18 es un cromatograma que ilustra la separación quiral en fase inversa del compuesto 19.6, al que se se le ha añadido el 2 % del enantiómero no deseado.

La figura 19 es un cromatograma que ilustra la separación en fase normal de un producto parcialmente racemizado, el compuesto 19.25, al que se se le ha añadido el 2 % del enantiómero no deseado.

60 La figuras 20A-20G ilustran la hidrólisis en plasma de diversos ésteres profármaco de la presente divulgación. En cada gráfico, se observa la pérdida de compuesto de profármaco con una elevación simultánea de la concentración plasmática de ácido (-) halofénico.

65 **Definiciones**

El término "mamífero" incluye seres humanos, animales domésticos (por ejemplo, perros o gatos), animales de granja (vacas, caballos o cerdos), monos, conejos, ratones y animales de laboratorio.

El término "resistencia a la insulina" puede definirse, en general, como un trastorno del metabolismo de la glucosa. Más específicamente, la resistencia a la insulina puede definirse como la capacidad reducida de la insulina para ejercer su acción biológica en un amplio intervalo de concentraciones, produciendo menos efecto biológico de lo esperado, (véase, por ejemplo, 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 una capacidad reducida para metabolizar la glucosa correctamente y responden escasamente, si lo hacen, al tratamiento con insulina. Las manifestaciones de la resistencia a la insulina incluyen una activación por insulina insuficiente de la incorporación, oxidación y almacenamiento en el músculo de la glucosa y a la supresión inadecuada de la lipólisis en el tejido adiposo y de la producción y secreción de glucosa en el hígado. La resistencia a la insulina puede provocar o contribuir al síndrome de ovario poliquístico, intolerancia a la glucosa (ITG), diabetes gestacional, hipertensión, obesidad, aterosclerosis y una variedad de otros trastornos. Finalmente, los individuos resistentes a la insulina pueden evolucionar hasta un punto en el que se alcanza el estado diabético. La asociación de la resistencia a la insulina con intolerancia a la glucosa, un aumento de los triglicéridos plasmáticos y una disminución de las concentraciones de colesterol de lipoproteínas de alta densidad, tensión arterial elevada, hiperuricemia, partículas de lipoproteínas de baja densidad más pequeñas y densas y mayores concentraciones en circulación del inhibidor del activador del plasminógeno 1), se ha denominado "síndrome X" (véase, por ejemplo, Reaven, G. M., *Physiol. Rev.* (1995) 75: 473-486).

El término "diabetes mellitus" o "diabetes" quiere decir una enfermedad o afección que se caracteriza, en general, por anomalías metabólicas en la producción y utilización de la glucosa que dan lugar a la incapacidad de mantener concentraciones de azúcar en sangre apropiadas en el organismo. La consecuencia de estos defectos es una glucosa en sangre elevada, denominado "hiperglucemia". Las dos formas principales de diabetes son la diabetes de tipo 1 y la diabetes de tipo 2. Como se describe anteriormente, la diabetes de tipo 1 es el resultado de una deficiencia total de insulina, la hormona que regula la utilización de la glucosa. La diabetes de tipo 2 se produce frecuentemente ante niveles normales o incluso elevados de insulina y puede ser consecuencia de la incapacidad de los tejidos para responder correctamente a la insulina. La mayoría de los pacientes con diabetes de tipo 2 son resistentes a la insulina y tienen una deficiencia de insulina relativa, en cuanto que la secreción de insulina no puede compensar la resistencia de los tejidos periféricos a responder a la insulina. Además, muchos diabéticos de tipo 2 son obesos. Otros tipos de trastornos de la homeostasis de la glucosa incluyen intolerancia a la glucosa, que es una etapa metabólica intermedia entre la homeostasis normal de la glucosa y la diabetes, y la diabetes mellitus gestacional, que es la intolerancia a la glucosa durante el embarazo en mujeres sin antecedentes clínicos de diabetes de tipo 1 o de tipo 2.

El término "diabetes secundaria" es la diabetes que resulta de otras etiologías identificables que incluyen: defectos genéticos de la función de las células β (por ejemplo, diabetes del adulto de comienzo juvenil, denominada "MODY," que es una diabetes de tipo 2 de aparición temprana con herencia autosómica; véanse, por ejemplo, Fajans S. *et al.*, *Diabet. Med.* (1996) (9 Suppl 6): S90-5 y Bell, G. *et al.*, *Annu. Rev. Physiol.* (1996) 58: 171-86; defectos genéticos en la acción de la insulina; enfermedades del páncreas exocrino (por ejemplo, hemocromatosis, pancreatitis y fibrosis quística); determinadas enfermedades endocrinas en las que hormonas en exceso interfieren con la acción de la insulina (por ejemplo, la hormona del crecimiento en la acromegalia y el cortisol en el síndrome de Cushing); determinados fármacos que suprimen la secreción de insulina (por ejemplo, fenitoína) o inhiben la acción de la insulina (por ejemplo, estrógenos y glucocorticoides); y la diabetes provocada por infección (por ejemplo, rubéola, Coxsackie y CMV); así como otros síndromes genéticos.

Las directrices para el diagnóstico de la diabetes de tipo 2, la intolerancia a la glucosa y la diabetes gestacional se han explicado por la Asociación Norteamericana de Diabetes (véase, por ejemplo, The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, (1999) vol. 2 (supl. 1): S5-19).

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 una concentración anormalmente elevada de insulina en sangre.

El término "hiperuricemia" se refiere a la presencia de una concentración anormalmente elevada de ácido úrico en sangre.

El término "secretagogo" quiere decir una sustancia o compuesto que estimula la secreción. Por ejemplo, un secretagogo de insulina es una sustancia o compuesto que estimula la secreción de insulina.

El término "hemoglobina" o "Hb" se refiere a un pigmento respiratorio presente en eritrocitos, que es responsable, en gran medida, del transporte de oxígeno. Una molécula de hemoglobina comprende cuatro subunidades polipeptídicas (dos sistemas de cadenas α y dos sistemas de cadenas β , respectivamente). Cada subunidad se forma mediante la asociación de una proteína globina y una molécula de hemo, que es un complejo de hierro-protoporfirina. La principal clase de hemoglobina encontrada en un hemolisado de adulto normal es la hemoglobina

adulta (denominada "HbA", también denominada HbA₀ para distinguirla de la glucohemoglobina, que se denomina "HbA₁", descrita más adelante), que tiene subunidades $\alpha_2\beta_2$. En un hemolisado de adulto normal también pueden encontrarse componentes en pequeñas cantidades tales como HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$).

- 5 Entre las clases de hemoglobinas adultas HbA, se encuentra una glucohemoglobina (denominada "HbA₁" o "hemoglobina glucosilada"), que puede fraccionarse adicionalmente en HbA_{1a1}, HbA_{1a2}, HbA_{1b} y HbA_{1c} con un fraccionamiento de intercambio iónico. Todas estas subclases tienen la misma estructura primaria, que se estabiliza mediante la formación de una aldmina (base de Schiff) por el grupo amino de la valina N-terminal de la cadena de la subunidad β de la hemoglobina normal HbA y glucosa (o glucosa-6-fosfato o fructosa), seguida de la formación de
- 10 cetoamina por reordenamiento de Amadori.

El término "glucohemoglobina" (también denominada "HbA_{1c}", "GHb", "hemoglobina - glucosilada", "indicador de control diabético" y "hemoglobina glucosilada"; en lo sucesivo denominada "hemoglobina A_{1c}") se refiere a un producto estable de la glucosilación no enzimática de la cadena β de la hemoglobina por glucosa plasmática. La hemoglobina A_{1c} comprende la parte principal de las glucohemoglobinas de la sangre. La proporción de glucohemoglobinas es proporcional a la concentración de glucosa en sangre. Por lo tanto, la tasa de formación de hemoglobina A_{1c} aumenta directamente con el aumento de las concentraciones plasmáticas de glucosa. Dado que la glucosilación se produce a una tasa constante durante el periodo de 120 días de vida de un eritrocito, la medida de la concentración de glucohemoglobina refleja la concentración de glucosa en sangre promedio para un individuo

15 durante los dos o tres meses anteriores. Por lo tanto, la determinación de la cantidad de glucohemoglobina HbA_{1c} puede ser un buen indicador para el control del metabolismo de los hidratos de carbono. En consecuencia, puede calcularse la concentración de glucosa en sangre de los dos últimos meses basándose en la proporción de HbA_{1c} y hemoglobina total Hb. El análisis de la hemoglobina A_{1c} en sangre se usa como una medida que permite el control a largo plazo de la concentración de glucosa en sangre (véanse, por ejemplo, Jain, S., *et al.*, *Diabetes* (1989) 38: 1539-1543; Peters A., *et al.*, *JAMA* (1996) 276: 1246-1252).

20

25

El término "síntoma" de la diabetes, como se usa en el presente documento, incluye poliuria, polidipsia y polifagia, incorporando su uso común. Por ejemplo, "poliuria" quiere decir el paso de un gran volumen de orina durante un periodo dado; "polidipsia" quiere decir sed excesiva crónica; y "polifagia" quiere decir alimentación excesiva. Otros síntomas de la diabetes incluyen, por ejemplo, aumento de la susceptibilidad frente a determinadas infecciones (especialmente infecciones fúngicas y estafilocócicas), náuseas y cetoacidosis (producción potenciada de cuerpos cetónicos en la sangre).

30

El término "complicación" de la diabetes incluye complicaciones microvasculares y complicaciones macrovasculares. Las complicaciones microvasculares son aquellas complicaciones que, en general, son consecuencia de daño escaso en los vasos sanguíneos. Estas complicaciones incluyen, por ejemplo, retinopatía (el deterioro o la pérdida de visión debida al daño de los vasos sanguíneos en los ojos); neuropatía (daño de los nervios y problemas en los pies debidos al daño de los vasos sanguíneos que van al sistema nervioso); y nefropatía (enfermedad renal debida al daño de los vasos sanguíneos en los riñones). Las complicaciones macrovasculares son aquellas complicaciones que, en general, son consecuencia de daño extenso en los vasos sanguíneos. Estas complicaciones incluyen, por ejemplo, cardiovasculopatía y vasculopatía periférica. Cardiovasculopatía se refiere a enfermedades de los vasos sanguíneos del corazón. Véase, por ejemplo, Kaplan, R. M., *et al.*, "Cardiovascular diseases" en *Health and Human Behavior*, pág. 206-242 (McGraw-Hill, Nueva York 1993). En general, la cardiovasculopatía es una de varias formas, incluidas, por ejemplo, hipertensión (también denominada tensión arterial elevada), cardiopatía coronaria, apoplejía y cardiopatía reumática. Vasculopatía periférica se refiere a enfermedades de cualquiera de los vasos sanguíneos exteriores al corazón. Frecuentemente, se trata de un estrechamiento de los vasos sanguíneos que transportan la sangre a los músculos de la pierna y el brazo.

35

40

45

El término "ateroesclerosis" engloba enfermedades y afecciones vasculares reconocidas y comprendidas por médicos en ejercicio en los campos de la medicina pertinentes. La cardiovasculopatía aterosclerótica, la cardiopatía coronaria (también conocida como arteriopatía coronaria o cardiopatía isquémica); la cerebrovasculopatía y la vasopatía periférica son manifestaciones clínicas de la aterosclerosis y, por lo tanto, se engloban en los términos "ateroesclerosis" y "ateroescleropatía".

50

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

55

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

60

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

65

El término "modular" se refiere a tratar, evita, suprimir, potenciar o inducir una función o afección. Por ejemplo, los

compuestos de la presente invención pueden modular la hiperlipidemia reduciendo el colesterol en un ser humano, suprimiendo de este modo la hiperlipidemia.

5 El término "tratar" quiere decir el tratamiento y el cuidado de un sujeto humano con el propósito de combatir la enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración de un compuesto de la presente invención para evitar el comienzo de los síntomas o complicaciones, aliviar los síntomas o complicaciones o eliminar la enfermedad, afección o trastorno.

10 El término "evitar" quiere decir el tratamiento y cuidado de un sujeto humano de forma que no se produce el comienzo de los síntomas de una enfermedad, afección o trastorno.

15 El término "colesterol" se refiere a un alcohol esteroideo que es un componente esencial de las membranas celulares y las vainas de mielina y, como se usa en el presente documento, incorpora su uso común. El colesterol también funciona como precursor para hormonas esteroideas y ácidos biliares.

20 El término "triglicérido(s)" ("TG"), como se usa en el presente documento, incorpora su uso común. Los TG consisten en tres moléculas de ácido graso esterificadas con una molécula de glicerol y sirven para almacenar ácidos grasos que son usados por las células musculares para la producción de energía o se incorporan y almacenan en tejido adiposo.

25 Debido a que el colesterol y los TG son insolubles en agua, deben empaquetarse en complejos moleculares especiales conocidos como lipoproteínas con el fin de ser transportados en el plasma. Las lipoproteínas pueden acumularse en el plasma debido a la superproducción y/o a la eliminación deficiente. Existen al menos cinco lipoproteínas distintas que difieren en tamaño, composición, densidad y función. En las células del intestino delgado, los lípidos alimentarios se empaquetan en grandes complejos lipoproteicos denominados "quilomicrones", que tienen un contenido alto en TG y bajo en colesterol. En el hígado, los TG y ésteres de colesterol se empaquetan y se liberan al plasma como lipoproteína rica en TG llamada lipoproteína de muy baja densidad ("VLDL"), cuya función principal es el transporte endógeno de TG producidos en el hígado o liberados por el tejido adiposo. A través de la acción enzimática, la VLDL puede reducirse e incorporarse por el hígado o transformarse en lipoproteína de densidad intermedia ("IDL"). La IDL, a su vez, puede incorporarse por el hígado o modificarse adicionalmente para formar la lipoproteína de baja densidad ("LDL"). La LDL se incorpora y se escinde por el hígado o se incorpora por tejido extrahepático. La lipoproteína de alta densidad ("HDL") ayuda a eliminar el colesterol de los tejidos periféricos en un proceso llamado transporte inverso del colesterol.

35 El término "dislipidemia" se refiere a concentraciones anómalas de lipoproteínas en plasma sanguíneo, incluidas concentraciones tanto disminuidas como elevadas de lipoproteínas (por ejemplo, concentraciones elevadas de LDL, VLDL y concentraciones disminuidas de HDL).

40 Las principales hiperlipidemias ejemplares incluyen, pero no se limitan a, las siguientes:

(1) *Hiperquilomicronemia familiar*, un trastorno genético poco frecuente que provoca una deficiencia de una enzima, la LP lipasa, que escinde moléculas grasas. La deficiencia de LP lipasa puede provocar la acumulación de grandes cantidades de grasa o lipoproteínas en la sangre;

45 (2) *Hipercolesterolemia familiar*, un trastorno genético relativamente común provocado cuando el defecto subyacente es una serie de mutaciones en el gen del receptor de LDL que da lugar a la disfunción de los receptores de LDL y/o la ausencia de los receptores de LDL. Esto produce una eliminación ineficaz de LDL por los receptores de LDL, que da lugar a concentraciones plasmáticas de LDL y colesterol total elevadas;

50 (3) *Hiperlipidemia combinada familiar*, también conocida como hiperlipidemia de tipo lipoproteína múltiple; un trastorno heredado en el que los pacientes y sus familiares en primer grado afectados puede manifestar, en diversos momentos, colesterol alto y triglicéridos altos. Las concentraciones de colesterol HDL suelen estar moderadamente disminuidos;

55 (4) *Apolipoproteína B-100 defectuosa familiar* es una anomalía genética autosómica dominante relativamente común. El defecto está provocado por una mutación de nucleótido individual que produce una sustitución de glutamina por arginina que puede provocar la reducción de la afinidad de las partículas de LDL por el receptor de LDL. En consecuencia, esto puede provocar concentraciones plasmáticas de LDL y colesterol total elevadas;

60 (5) *Disbetalipoproteinemia familiar*, también denominada hiperlipoproteinemia de tipo III, es un trastorno heredado poco común que da lugar a elevaciones de moderadas a graves de las concentraciones séricas de TG y colesterol con función anómala de la apolipoproteína E. Habitualmente, las concentraciones de HDL son normales; y

65 (6) *Hipertrigliceridemia familiar*, es un trastorno heredado común en el que la concentración de VLDL plasmática es elevada. Esto puede provocar concentraciones de triglicéridos (y habitualmente no concentraciones de colesterol) de leve a moderadamente elevadas y, frecuentemente, puede asociarse con concentraciones plasmáticas de HDL

bajas.

Los factores de riesgo de las hiperlipidemias secundarias ejemplares incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: (1) factores de riesgo por enfermedad, tales como antecedentes médicos de diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2, síndrome de Cushing, hipotiroidismo y determinados tipos de insuficiencia renal; (2) factores de riesgo farmacológicos, que incluyen, pastillas anticonceptivas; hormonas, tales como estrógeno, y corticoesteroides; determinados diuréticos; y diversos β bloqueantes; (3) los factores de riesgo alimentarios incluyen ingesta de grasa alimentaria superior al 40 % por calorías totales; ingesta de grasas saturadas superior al 10 % por calorías totales; ingesta de colesterol superior a 300 mg por día; consumo de alcohol habitual y excesivo; y obesidad.

Los términos "obeso" y "obesidad", de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, se refieren a un índice de masa corporal (IMC) mayor de 27,8 kg/m² para hombres y de 27,3 kg/m² para mujeres (el IMC es igual a peso (kg)/altura (m²). La obesidad está relacionada con una variedad de afecciones médicas que incluyen la diabetes y la hiperlipidemia. La obesidad también es un factor de riesgo conocido para el desarrollo de la diabetes de tipo 2 (véanse, por ejemplo, Barrett-Conner, E., *Epidemol. Rev.* (1989) 11: 172-181; y Knowler, *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.* (1991)53:1543-1551).

"Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales no tóxicas de metales alcalinos, metales alcalinotérreos y de amonio usadas comúnmente en la industria farmacéutica, incluidas sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bario, amonio y cinc protamina, que se preparan mediante métodos bien conocidos en la técnica. El término también incluye sales de adición de ácido no tóxicas, que se preparan, en general, haciendo reaccionar los compuestos de la presente invención con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Las sales representativas incluyen clorhidrato, bromhidrato, sulfato, bisulfato, acetato, oxalato, valerato, oleato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato y napsilato.

"Sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que mantienen la eficacia y las propiedades biológicas de las bases libres y que no son biológicamente o de otro modo no deseables, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico, y ácidos orgánicos tales 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-toluenosulfónico y ácido salicílico. Para una descripción de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase, por ejemplo, Bundgaard, H., ed., *Design of Prodrugs* (Elsevier Science Publishers, Ámsterdam 1985).

"Éster farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos ésteres que mantienen, tras la hidrólisis del enlace de éster, la eficacia y las propiedades biológicas del ácido carboxílico o el alcohol y que no son biológicamente o de otro modo no deseables. Para una descripción de ésteres farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H., anteriormente.

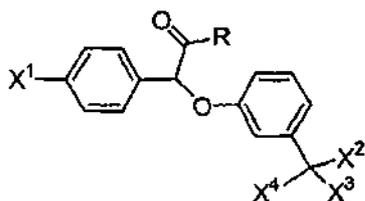
Normalmente, estos ésteres se forman a partir del ácido carboxílico correspondiente y un alcohol. En general, la formación del éster puede lograrse por medio de técnicas sintéticas convencionales. (Véanse, por ejemplo, March *Advanced Organic Chemistry*, 3^a Ed., pág. 1157 (John Wiley & Sons, Nueva York 1985) y referencias citadas en él, y Mark *et al.*, *Encyclopedia of Chemical Technology*, (1980) John Wiley & Sons, Nueva York). En general, el componente de alcohol del éster comprenderá: (i) un alcohol alifático C₂-C₁₂ que puede contener o no uno o más enlaces dobles y puede contener o no carbonos ramificados; o (ii) un alcohol aromático o heteroaromático C₇-C₁₂. La presente invención también contempla el uso de aquellas composiciones que son al mismo tiempo ésteres como se describe en el presente documento y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

"Amida farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas amidas que mantienen, tras la hidrólisis del enlace de amida, la eficacia y las propiedades biológicas del ácido carboxílico o la amina y que no son biológicamente o de otro modo no deseables. Para una descripción de amidas farmacéuticamente aceptables como profármacos, véase Bundgaard, H., anteriormente. Normalmente, estas amidas se forman a partir del ácido carboxílico correspondiente y una amina. En general, la formación de la amida puede lograrse por medio de técnicas sintéticas convencionales. Véanse, por ejemplo, March *et al.*, *Advanced Organic Chemistry*, 3^a Ed., pág. 1152 (John Wiley & Sons, Nueva York 1985), y Mark *et al.*, *Encyclopedia of Chemical Technology*, (John Wiley & Sons, Nueva York 1980). La presente invención también contempla el uso de aquellas composiciones que son al mismo tiempo amidas como se describe en el presente documento y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

Descripción detallada

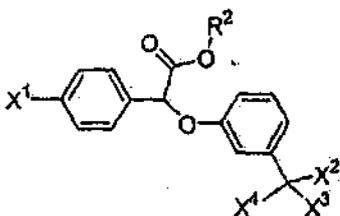
(1) General

La presente divulgación se refiere al uso de un derivado preferido del ácido (-) (3-halometilfenoxi) (4-halofenil) acético que tiene la fórmula general:



Fórmula I

- 5 En la fórmula I, R es un grupo funcional, incluidos, pero sin limitarse a, los siguientes: alcoxi, heteroalcoxi, ariloxi, heteroariloxi, aralcoxi inferior, por ejemplo, fenil-alcoxi inferior tal como benciloxi, fenetiloxi; di-alquilamino inferior-alcoxi inferior y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables no tóxicas, por ejemplo, dimetilaminoetoxi, dietilaminoetoxi clorhidrato, dietilaminoetoxi citrato, dietilaminopropoxi; benzamido-alcoxi inferior, por ejemplo, benzamidoetoxi o benzamidopropoxi; ureido-alcoxi inferior, por ejemplo, ureidoetoxi o 1-metil-2-ureidoetoxi; N'-alquilo inferior-ureido-alcoxi inferior, es decir, $R^1NH-CONH-C_nH_{2n}-O-$ en el que R^1 representa alquilo inferior y n es un número entero que tiene un valor de desde 1 hasta aproximadamente 5, por ejemplo, N'-etil-ureidoetoxi o N'-etil-ureidopropoxi; carbamoil-alcoxi inferior, por ejemplo, carbamoilmetoxi o carbamoiletoxi; alcoxi inferior halofenoxi sustituido, por ejemplo, 2-(4-clorofenoxi) etoxi o 2-(4-clorofenoxi)-2-metilpropoxi; fenoxi carbamoil sustituido, por ejemplo, 2-carbamoilfenoxi; carboxi-alquilamino inferior y sus sales de adición de amina farmacéuticamente aceptables no tóxicas, por ejemplo, sal de carboximetilamino ciclohexilamina o carboxietilamina; N,N-di-alquilamino inferior-alquilamino inferior y sus sales de adición de solución ácida farmacéuticamente aceptables no tóxicas, por ejemplo, N,N-dimetilaminoetilamino clorhidrato, N,N-dietilaminoetilamino, N,N-dietilaminoetilamino citrato o N,N-dimetilaminopropilamino citrato; alquilamino inferior halo sustituido, por ejemplo, 2-cloroetilamino o 4-clorobutilamino; alquilamino inferior hidroxil sustituido, por ejemplo, 2-hidroxietilamino o 3-hidroxipropilamino; alquilamino inferior sustituido con alcanoiloxi inferior, por ejemplo, acetoxietilamino o acetoxipropilamino; ureido; arilsulfonamido, por ejemplo, $-NH_2SO_2Ar$, alquilsulfonamido, por ejemplo, $-NH_2SO_2CH_3$; alcoxycarbonilamino inferior, por ejemplo, metoxycarbonilamino (es decir, $-NHCOOCH_3$) o etiloxycarbonilamino (es decir, $CH_3COOCH_2NH_2$). R se selecciona opcionalmente de tal forma que es un resto hidrolizable, tal como un éster o una amida, y tras la hidrólisis del enlace éster o amida, el compuesto es biológicamente activo tal como ésteres o amidas farmacéuticamente aceptables como profármacos. X^1 , en la fórmula I, es un halógeno; y X^2 , X^3 y X^4 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno y halógeno, con la condición de que no más de dos de X^2 , X^3 y X^4 sean hidrógeno. Para cada uno de X^1 a X^4 el halógeno puede ser cloro, bromo, flúor o yodo, preferentemente cloro o flúor.
- 30 La presente divulgación se refiere al uso de derivados del ácido (-) (3-halometilfenoxi) (4-halofenil) acético que tienen la siguiente fórmula general:

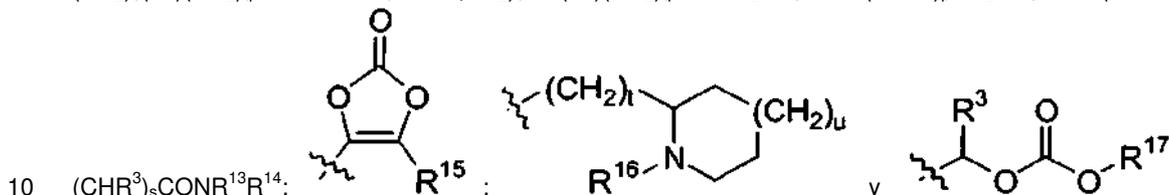


Fórmula II

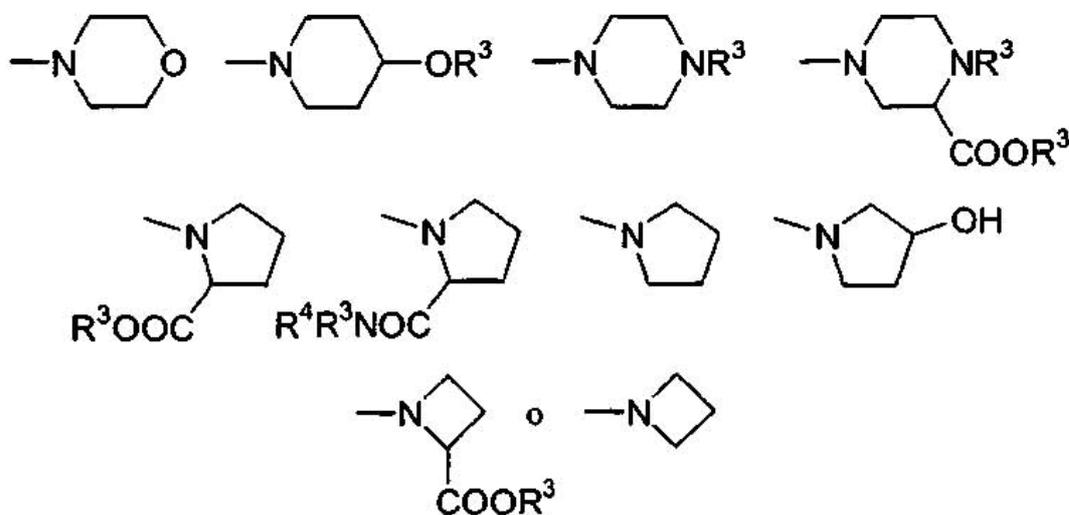
- 35 En la fórmula II, R^2 es un grupo funcional que incluye los siguientes: alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, fenil-alquilo inferior, benzamido-alquilo inferior, di-alquilamino inferior-alquilo inferior, ureido-alquilo inferior, N'-alquilo inferior-ureido-alquilo inferior, carbamoil-alquilo inferior, alquilo inferior halofenoxi sustituido y fenilo carbamoil sustituido. Se prefieren determinados grupos, incluidos fenil-alquilo inferior, por ejemplo, bencilo; benzamido-alquilo inferior, por ejemplo, benzamidoetilo; di-alquilamino inferior-alquilo inferior, por ejemplo, dimetilaminoetilo o dietilaminopropilo; ureido-alquilo inferior, por ejemplo, ureidoetilo o 1-metil-2-ureidoetilo; N'-alquilo inferior-ureido-alquilo inferior, por ejemplo, N'-etil-ureidoetilo o N'-etil-ureidopropilo; carbamoil-alquilo inferior, por ejemplo, carbamoilmetilo o carbamoiletilo; alquilo inferior halofenoxi sustituido, por ejemplo, 2-(4-clorofenoxi)etilo o 2-(4-clorofenoxi)-2-metilpropilo; y fenilo carbamoil sustituido, por ejemplo, 2-carbamoilfenilo. X^1 , en la fórmula II, es un halógeno; y X^2 , X^3 y X^4 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno y halógeno con la condición de que no más de dos de X^2 , X^3 y X^4 sean hidrógeno. Para cada uno de X^1 a X^4 el halógeno puede ser cloro, bromo, flúor o yodo, preferentemente cloro o flúor. Opcionalmente, X^1 es Cl o F, más preferentemente Cl, y X^2 , X^3 y X^4 se combinan con el átomo de carbono al que se une cada uno para formar $-CF_3$, $-CF_2Cl$, $-CF_2H$ y $-CH_2F$. Por tanto, el término "3-halometilfenoxi" se refiere a aquellos grupos fenoxi que tienen un sustituyente monohalometilo, dihalometilo o trihalometilo, preferentemente un sustituyente dihalometilo o trihalometilo, más preferentemente,
- 50

difluorometilo o trifluorometilo.

Volviendo al análisis de R², tales grupos incluyen los siguientes: alquilo C₁-C₅, alquilo cíclico C₁-C₈, alqueno C₂-C₅ y alquino C₂-C₅, en los que los grupos están sustituidos opcionalmente con uno o más átomos de halógeno; fenilo, naftilo y piridilo, en los que los grupos están sustituidos opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, -NO₂, -S(O)_m(alquilo C₁-C₅), -OH, -NR³R⁴, -CO₂R⁵, -CONR³R⁴, -NR³COR⁴, -NR³CONR³R⁴ y -C_vF_w; -(CHR³)_tR⁴; -R⁷OR³; -R⁷O₂CR⁸NR³R⁴; -R⁷COR⁶; -R⁷NR³COR⁶; -R⁷NR³R⁶; -(CH₂)_oCH(R³)(CH₂)_qO₂CR⁹; -(CH₂)_oCH(R³)(CH₂)_qNR⁴COR⁹; -(CH₂)_oCH(R³)(CH₂)_qNR⁴CONR³R⁴; -(CH₂)_o(R³)(CH₂)_qNR⁴COOR¹⁰; -(CH₂)_oCH(R³)(CH₂)_qNR⁴SO₂R¹¹; -(CHR³)_pCO₂R¹²; -(CHR³)_pNR³R⁴; -



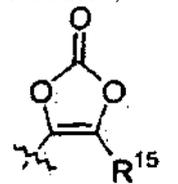
Los subíndices m, o, q, s, t, u, v y w son números enteros como sigue: m es de 0 a 2; o y q son de 0 a 5; p es de 1 a 5; s es de 1 a 3; t es de 1 a 5; u es de 0 a 1; v es de 1 a 3; y w es de 1 a (2v + 1). R³ y R⁴ son independientemente H, alquilo C₁-C₅, fenilo o bencilo. R⁵ es H, alquilo C₁-C₅ o NR³R⁴. R⁶ es fenilo, naftilo, piridilo, imidazolilo, indoxilo, indolizínilo, oxazolilo, tiazolilo, tienilo, pirimidilo o 1-pirazolilo sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, -NO₂, -S(O)_m(alquilo C₁-C₅), -OH, -NR³R⁴, -CO₂R⁵, -CONR³R⁴, -NR³COR⁴, -NR³CONR³R⁴ y -C_vF_w. R⁷ es un grupo alqueno o alquilideno C₁-C₈ cíclico, ramificado o de cadena lineal, saturado o insaturado sustituido opcionalmente con uno o más grupos seleccionados de halo, hidroxilo, tiol, amino, monoalquil amino, dialquil amino, acilamino, carboxilo, alquilcarboxilo, acilo, arilo, aroilo, aralquilo, ciano, nitro, alcoxi, alquenoiloxi, alquilcarboniloxi y arilcarboniloxi. R⁸ es un alqueno o alquilideno C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado sustituido opcionalmente con uno o más grupos seleccionados de amino, monoalquil amino, dialquil amino, acilamino, hidroxilo, tiol, metiltiol, carboxilo y fenilo. R⁹ y R¹⁰ son independientemente H, alquilo C₁-C₅, sustituido opcionalmente con uno o más grupos que consisten en alcoxi, arilo y heteroarilo C₁-C₅, en los que el arilo es fenilo o naftilo sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, -NO₂, -S(O)_m(alquilo C₁-C₅), -OH, -NR³R⁴, -CO₂R⁵, -CONR³R⁴, -NR³COR⁴, -NR³CONR³R⁴ y -C_vF_w) y en los que el heteroarilo es piridilo sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, -NO₂, -S(O)_m(alquilo C₁-C₅), -OH, -NR³R⁴, -CO₂R⁵, -CONR³R⁴, -NR³COR⁴, -NR³CONR³R⁴ y -C_vF_w. R¹¹ es metilo o fenilo, en el que el fenilo está sustituido opcionalmente con metilo y/o -NO₂. R¹² es H, alquilo C₁-C₅, fenilo, bencilo, naftilo o piridilo, en el que el alquilo C₁-C₅, fenilo, naftilo, bencilo y piridilo están sustituidos opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, -NO₂, -S(O)_m(alquilo C₁-C₅), -OH, -NR³R⁴, -CO₂R⁵, -CONR³R⁴, -NR³COR⁴, -NR³CONR³R⁴ y -C_vF_w. R¹³ y R¹⁴ son independientemente los siguientes: alquilo, alquenoil, arilo, aralquilo o cicloalquilo, en los que los grupos están sustituidos opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consisten en halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, -NO₂, -S(O)_m(alquilo C₁-C₅), -OH, -NR³R⁴, -CO₂R⁵, -CONR³R⁴, -NR³COR⁴, -NR³CONR³R⁴, -CH₂NR³R⁴, -OOCR¹⁸ y -C_vF_w; y en los que R¹³ y R¹⁴ se incluyen como -(CHR₃)CONR¹³R¹⁴, NR¹³R¹⁴ es



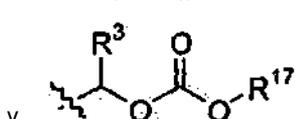
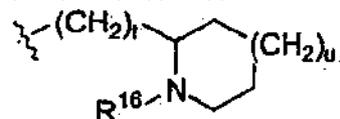
R¹⁵ es C_vF_w o alquilo C₁-C₅, en el que el alquilo C₁-C₅ está sustituido opcionalmente con los siguientes sustituyentes: alcoxi C₁-C₅; fenilo, sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, -NO₂, -S(O)_m(alquilo C₁-C₅), -OH, -NR³R⁴, -CO₂R⁵, -CONR³R⁴, -

5 NR^3COR^4 , $-\text{NR}^3\text{CONR}^3\text{R}^4$ y $-\text{C}_v\text{F}_w$; bencilo, sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$, $-\text{NO}_2$, $-\text{S}(\text{O})_m(\text{alquilo } \text{C}_1\text{-C}_5)$, $-\text{OH}$, $-\text{NR}^3\text{R}^4$, $-\text{CO}_2\text{R}^5$, $-\text{CONR}^3\text{R}^4$, $-\text{NR}^3\text{COR}^4$, $-\text{NR}^3\text{CONR}^3\text{R}^4$ y $-\text{C}_v\text{F}_w$. R^{16} es H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_5$ o bencilo. R^{17} es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_5$, alquilo cíclico $\text{C}_3\text{-C}_8$, fenilo o bencilo. R^{18} es H, alquilo, arilo, aralquilo o cicloalquilo, donde el grupo está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$, $-\text{NO}_2$, $-\text{S}(\text{O})_m(\text{alquilo } \text{C}_1\text{-C}_5)$, $-\text{OH}$, $-\text{NR}^3\text{R}^4$, $-\text{CO}_2\text{R}^5$, $-\text{CONR}^3\text{R}^4$, $-\text{NR}^3\text{COR}^4$, $-\text{NR}^3\text{CONR}^3\text{R}^4$ y $-\text{C}_v\text{F}_w$.

Opcionalmente, R^2 se selecciona de $-\text{R}^7\text{OR}^3$; $-\text{R}^7\text{O}_2\text{CR}^8\text{NR}^3\text{R}^4$; $-\text{R}^7\text{COR}^6$; $-\text{R}^7\text{NR}^3\text{COR}^6$; $-\text{R}^7\text{NR}^3\text{R}^6$; $-(\text{CH}_2)_o\text{CH}(\text{R}^3)(\text{CH}_2)_d\text{NR}^4\text{COR}^9$; $-(\text{CH}_2)_o\text{CH}(\text{R}^3)(\text{CH}_2)_d\text{NR}^4\text{CONR}^3\text{R}^4$; $(\text{CH}_2)_o\text{CH}(\text{R}^3)(\text{CH}_2)_d\text{NR}^4\text{COOR}^{10}$; -



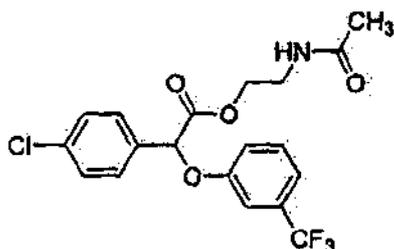
10 $(\text{CH}_2)_o\text{CH}(\text{R}^3)(\text{CH}_2)_d\text{NR}^4\text{SO}_2\text{R}^{11}$; $-(\text{CHR}^3)_p\text{CO}_2\text{R}^{12}$; $-(\text{CHR}^3)_s\text{CONR}^3\text{R}^{14}$;



y , en los que las partes de alquilo de cualquiera de los grupos R tienen de uno a cuatro átomos de carbono y en realizaciones preferidas adicionalmente son partes de alquilo no sustituidas de desde 1 hasta 4 átomos de carbono.

15 Opcionalmente, el compuesto es uno de los compuestos de 19.1 a 19.29 de los ejemplos que figuran más adelante.

Opcionalmente, la presente divulgación se refiere al uso de un compuesto que tiene la fórmula:



20
Fórmula III

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

25 Con referencia a cada una de las fórmulas anteriores, los grupos sustituyentes tienen significados reconocidos en la técnica. Más en particular, con términos tales como alquilo se quiere decir grupos que tienen de 1 a 8 átomos de carbono, a no ser que se indique lo contrario. Análogamente, "alquilenos" y similares (por ejemplo, alcoxi, heteroalquilo) se refieren a grupos que tienen 8 o menos átomos de carbono, a menos que se indique lo contrario.
30 Cuando se usa el término "inferior" para referirse a un grupo alquilo (o una de sus variantes, tal como alcoxi, alcanamido, etc.), se pretende que el grupo tenga de 1 a 4 átomos de carbono. Los términos "arilo" y "heteroarilo" se refieren a grupos monocíclicos y bicíclicos condensados tales como fenilo, naftilo, piridilo, bencimidazolilo y quinolinilo. Los grupos preferidos para arilo son fenilo y naftilo, mientras que un grupo heteroarilo preferido es el piridilo.

35 Los cambios en el metabolismo de fármacos mediados por la inhibición del citocromo P450 tienen un potencial muy elevado para precipitar efectos adversos significativos en pacientes. Tales efectos se observaron con anterioridad en pacientes tratados con halofenato racémico. En los presentes estudios, se descubrió que el ácido halofénico racémico inhibía el citocromo P450 2C9, una enzima que se sabe que desempeña un papel significativo en el
40 metabolismo de fármacos específicos. Esto puede dar lugar a problemas significativos con interacciones farmacológicas con anticoagulantes, agentes antiinflamatorios y otros fármacos metabolizados por esta enzima. Sin embargo, bastante sorprendentemente, se observó una diferencia sustancial entre los enantiómeros del ácido halofénico en su incapacidad para inhibir el citocromo P450 2C9, siendo el enantiómero (-) aproximadamente veinte veces menos activo, mientras que el enantiómero (+) era bastante potente (véase el ejemplo 7). Por tanto, el uso del
45 enantiómero (-) de los compuestos de fórmula I, fórmula II o fórmula III evitará la inhibición de esta enzima y los efectos adversos sobre el metabolismo de fármacos observados anteriormente con halofenato racémico.

La presente divulgación engloba modular la resistencia a la insulina en un mamífero mediante la administración al

mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene la estructura general de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En una divulgación preferida actualmente, el compuesto tiene la estructura general de la fórmula II. Opcionalmente, el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. Es bastante sorprendente el hecho de que los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato se evitan proporcionando una cantidad del estereoisómero (-) de los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III que es insuficiente para provocar los efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

La presente divulgación también engloba modular la diabetes de tipo 2 en un mamífero mediante la administración al mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene la estructura general de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, el compuesto tiene la estructura de la fórmula II. Opcionalmente, el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. Es bastante sorprendente el hecho de que los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato se evitan proporcionando una cantidad del estereoisómero (-) de los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III que es insuficiente para provocar los efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

La presente divulgación engloba además modular la hiperlipidemia en un mamífero mediante la administración al mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene la estructura general de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, el compuesto tiene la estructura de la fórmula II. Opcionalmente, el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. Es bastante sorprendente el hecho de que los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato se evitan proporcionando una cantidad del estereoisómero (-) de los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III que es insuficiente para provocar los efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

La mezcla racémica del halofenato (es decir, la mezcla racémica 1:1 de los dos enantiómeros) posee actividad antihiperlipidémica y proporciona tratamiento y una disminución de la hiperglucemia relacionada con la diabetes cuando se combina con determinados otros fármacos usados comúnmente para tratar esta enfermedad. Sin embargo, esta mezcla racémica, aunque ofrece la expectativa de eficacia, provoca efectos adversos. El término "efectos adversos" incluye náuseas, úlceras gastrointestinales y hemorragia gastrointestinal. Se ha informado de otros efectos secundarios con halofenato racémico, incluidos problemas con interacciones entre fármacos, especialmente incluidas dificultades de control de la anticoagulación con Coumadin™. La utilización de compuestos sustancialmente puros de la presente divulgación da lugar a definiciones de eficacia relacionadas con la dosis más clara, la disminución de efectos adversos y, en consecuencia, un índice terapéutico mejorado. Como tal, se ha descubierto ahora que es más deseable y ventajoso administrar el enantiómero (-) de halofenato en lugar del halofenato racémico.

La presente divulgación engloba además modular la hiperuricemia en un mamífero mediante la administración al mamífero de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene la estructura general de la fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Opcionalmente, el compuesto tiene la estructura de la fórmula II. Opcionalmente, el compuesto tiene la estructura de la fórmula III. Es bastante sorprendente el hecho de que los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato se evitan proporcionando una cantidad del estereoisómero (-) de los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III que es insuficiente para provocar los efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

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

Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la habilidad de rotar el plano de la luz polarizada en el plano. En la descripción de un compuesto ópticamente activo, se usan los prefijos R y S para denotar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su o sus centros quirales. Los prefijos "d" y "l" o (+) y (-) se emplean para designar el signo de la rotación de la luz polarizada en el plano por el compuesto, significando (-) o l que el compuesto es "levorrotatorio" y significando (+) o d que el compuesto es "dextrorrotatorio". No existe una correlación entre la nomenclatura para la estereoquímica absoluta y para la rotación de un enantiómero. Para una estructura química dada, estos compuestos llamados "estereoisómeros" son idénticos excepto porque son imágenes especulares entre sí. Un estereoisómero específico también puede denominarse "enantiómero" y, frecuentemente, una mezcla de tales isómeros se llama una mezcla "enantiomérica" o "racémica". Véase, por ejemplo, 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 halofenatos derivados del ácido (3-trihalometilfenoxi) (4-halofenil) acético puede realizarse mediante los métodos descritos en la patente de EE.UU. n.º 3.517.050. La síntesis de los compuestos de la presente invención se describe adicionalmente en los ejemplos, anteriormente. Los enantiómeros individuales puede obtenerse mediante la resolución de la mezcla racémica de enantiómeros usando medios convencionales conocidos y usados por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Jaques, J., *et al.*, en *Enantiomers, Racemates, and Resolutions*, John Wiley and Sons, Nueva York (1981). También pueden usarse otros métodos de resolución estándar conocidos por los expertos en la técnica, incluida la cristalización simple y la resolución cromatográfica (véase, por ejemplo, *Stereochemistry of Carbon Compounds* (1962) E. L. Eliel, McGraw

Hill; Lochmuller, J. *Chromatography* (1975) 113, 283-302). Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, es decir, los isómeros ópticamente puros, pueden prepararse a partir de la mezcla racémica mediante resolución biocatalítica enzimática. La resolución biocatalítica enzimática se ha descrito anteriormente (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.º 5.057.427 y 5.077.217. Otros métodos de obtención de enantiómeros incluyen la síntesis estereoespecífica (véase, por ejemplo, Li, A. J. *et al.*, *Pharm. Sci.* (1997) 86: 1073-1077).

La expresión "sustancialmente sin su estereoisómero (+)", como se usa en el presente documento, quiere decir que la composición contiene una proporción sustancialmente mayor del isó(-) isómero de halofenato con relación al (+) isómero. Opcionalmente, la expresión "sustancialmente sin su estereoisómero (+)", como se usa en el presente documento, quiere decir que la composición es de al menos el 90 % en peso del (-) isómero y del 10 % en peso o menos del (+) isómero. Opcionalmente, la expresión "sustancialmente sin su estereoisómero (+)", como se usa en el presente documento, quiere decir que la composición contiene al menos el 99 % en peso del (-) isómero y el 1 % en peso o menos del (+) isómero. Opcionalmente, la expresión "sustancialmente sin su (+) isómero" quiere decir que la composición contiene más del 99 % en peso del (-) isómero. Estos porcentajes se basan en la cantidad total de halofenato de la composición. Las expresiones "(l) isómero de halofenato sustancialmente ópticamente puro", "(l) halofenato sustancialmente ópticamente puro", "(l) isómero de halofenato ópticamente puro" y "(l) halofenato ópticamente puro" se refieren todas al (-) isómero y se engloban en las cantidades descritas anteriormente. Además, las expresiones "(d) isómero de halofenato sustancialmente ópticamente puro", "(d) halofenato sustancialmente ópticamente puro", "(d) isómero de halofenato ópticamente puro" y "(d) halofenato ópticamente puro" se refieren todas al (+) isómero y se engloban en las cantidades descritas anteriormente.

El término "exceso enantiomérico" o "ee" se relaciona con el término "pureza óptica" en cuanto que ambos son medidas del mismo fenómeno. El valor de ee será un número de desde 0 hasta 100, siendo 0 racémico y siendo 100 el enantiómero solo puro. Un compuesto al que se hace referencia como ópticamente puro al 98 % puede describirse como un ee del 96 %.

(3) Tratamiento combinado con agentes activos adicionales

Las composiciones pueden formularse y administrarse de la misma manera que se detalla a continuación. "Formulación" se define como una preparación farmacéutica que contiene una mezcla de diversos excipientes e ingredientes clave que proporcionan una forma útil y deseable, relativamente estable, de un compuesto o fármaco. Para la presente divulgación, "formulación" se incluye dentro del significado del término "composición". Los compuestos de la presente invención pueden usarse de forma eficaz solos o en combinación con uno o más agentes activos adicionales en función del tratamiento objetivo deseado (véanse, por ejemplo, Turner, N, *et al. Prog. Drug Res.* (1998)51: 33-94; Hafmer, S. *Diabetes Care* (1998) 21:160-178; y DeFronzo, R. *et al.* (ed.), *Diabetes Reviews* (1997) vol. 5. n.º 4). Una serie de estudios han investigado los beneficios de los tratamientos combinados con agentes orales (véanse, por ejemplo, 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., San Luis, MO 1997); Chiasson, J. *et al.*, *Ann. Intern. Med.* (1994) 121: 928-935; Coniff, R. *et al.*, *Clin. Ther.* (1997) 19: 16-26; Coniff, R. *et al.*, *Am. J. Med.* (1995) 98: 443-451; e Iwamoto, Y. *et al.*, *Diabet. Med.* (1996) 13 365-370; Kwiterovich, P. *Am. J. Cardiol* (1998) 82(12A): 3U-17U). Estos estudios indican que puede mejorarse adicionalmente la modulación de la diabetes y la hiperlipidemia mediante la adición de un segundo agente al régimen terapéutico. El tratamiento combinado incluye la administración de una única formulación de dosificación farmacéutica que contiene un compuesto que tiene la estructura general de fórmula I (o fórmula II o fórmula III) y uno o más agentes activos adicionales, así como la administración de un compuesto de fórmula I (o fórmula II o fórmula III) y cada agente activo en su propia formulación de dosificación farmacéutica independiente. Por ejemplo, pueden administrarse un compuesto de fórmula I y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa al sujeto humano conjuntamente en una única composición de dosificación oral, tal como un comprimido o cápsula, o puede administrarse cada agente en formulaciones de dosificación oral independientes. Cuando se usan formulaciones de dosificación independientes, pueden administrarse un compuesto de fórmula I y uno o más agentes activos adicionales esencialmente al mismo tiempo (es decir, de forma simultánea) o en momentos escalonados separados (es decir, secuencialmente). Se entiende que el tratamiento combinado incluye todos estos regímenes.

Un ejemplo de tratamiento combinado que modula (evita el comienzo de los síntomas o complicaciones asociados) la aterosclerosis, en el que un compuesto de fórmula I se administra en combinación con uno o más de los siguientes agentes activos: un agente antihiperlipidémico; un agente elevador del HDL en plasma; un agente antihipercolesterolemico, tal como un inhibidor de la biosíntesis del colesterol, por ejemplo, un inhibidor de la hidroximetilglutaril (HMG) CoA reductasa (también denominados estatinas, tal como lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina y atorvastatina), un inhibidor de la HMG-CoA sintasa, un inhibidor de la escualeno epoxidasa o un inhibidor de la escualeno sintetasa (también conocido como inhibidor de la escualeno sintasa); un inhibidor de la acil-coenzima A colesterol aciltransferasa (ACAT), tal como melinamida; probucol; ácido nicotínico y sus sales y niacinamida; un inhibidor de la absorción del colesterol, tal como β -sitosterol; una resina de intercambio aniónico secuestrante de ácidos biliares, tal como colestiramina, colestipol o derivados dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado; un inductor de receptor de LDL (lipoproteína de baja densidad); fibratos, tales como clofibrato, bezafibrato, fenofibrato y gemfibrozil; vitamina B₆ (también conocida como piridoxina) y sus sales farmacéuticamente

aceptables, tales como la sal de HCl; vitamina B₁₂ (también conocida como cianocobalamina); vitamina B₃ (también conocida como ácido nicotínico y niacinamida, anteriormente); vitaminas antioxidantes, tales como la vitamina C y la E y el betacaroteno; un betabloqueante; un antagonista de la angiotensina II; un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina; y un inhibidor de la agregación plaquetaria, tal como antagonistas del receptor de fibrinógeno (es decir, antagonistas del receptor de glucoproteína IIb/IIIa fibrinógeno) y aspirina. Como se indica anteriormente, los compuestos de fórmula I pueden administrarse en combinación con más de un agente activo adicional, por ejemplo, una combinación de un compuesto de fórmula I con un inhibidor de la HMG-CoA reductasa (por ejemplo, lovastatina, simvastatina y pravastatina) y aspirina, o un compuesto de fórmula I con un inhibidor de la HMG-CoA reductasa y un β bloqueante.

Otro ejemplo de tratamiento combinado puede verse en el tratamiento de la obesidad o de trastornos relacionados con la obesidad, en el que los compuestos de fórmula I pueden usarse de forma eficaz en combinación, por ejemplo, con fenilpropanolamina, fentermina, dietilpropión, mazindol; fenfluramina, dexfenfluramina, fentiramina, agentes agonistas del adrenerreceptor β_3 ; sibutramina, inhibidores de la lipasa gastrointestinal (tales como orlistat) y leptinas. Otros agentes usados en el tratamiento de la obesidad o de trastornos relacionados con la obesidad en el que los compuestos de fórmula I pueden usarse de forma eficaz en combinación, por ejemplo, con el neuropéptido Y, enterostatina, colecitocinina, bombesina, amilina, receptores de histamina H₃, receptores de dopamina D₂, hormona estimuladora de melanocitos, factor de liberación de corticotropina, galanina y ácido gamma aminobutírico (GABA).

Otro ejemplo más de tratamiento combinado puede verse en la modulación de la diabetes (o el tratamiento de la diabetes y sus síntomas, complicaciones y trastornos relacionados), en la que los compuestos de fórmula I pueden usarse de forma eficaz, por ejemplo, con sulfonilureas (tales como clorpropamida, tolbutamida, acetohexamida, tolazamida, gluburida, gliclazida, glinasa, glimepirida y glipizida), biguanidas (tales como metformina), tiazolidindionas (tales como ciglitazona, pioglitazona, troglitazona y rosiglitazona); deshidroepiandrosterona (también denominada DHEA o su éster de sulfato conjugado, DHEA-SO₄); antiglucocorticoides; inhibidores del TNF α , inhibidores de la α glucosidasa (tales como acarbosa, miglitol y voglibosa), pramlintida (un análogo sintético de la hormona humana amilina), otros secretagogos de la insulina (tales como repaglinida, gliquidona y nateglinida), insulina, así como los agentes activos analizados anteriormente para el tratamiento de la aterosclerosis.

Un ejemplo adicional de tratamiento combinado puede verse en la modulación de la hiperlipidemia (tratamiento de la hiperlipidemia y sus complicaciones relacionadas), en la que los compuestos de fórmula I puede usarse de forma eficaz en combinación, por ejemplo, con estatinas (tales como fluvastatina, lovastatina, pravastatina o simvastatina), resinas de unión a ácidos biliares (tales como colestipol o colestiramina), ácido nicotínico, probucol, betacaroteno, vitamina E o vitamina C.

De acuerdo con la presente divulgación, puede usarse una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I (o fórmula II o fórmula III) para la preparación de una composición farmacéutica útil para tratar la diabetes, tratar la hiperlipidemia, tratar la hiperuricemia, tratar la obesidad, disminuir la concentración de triglicéridos, disminuir la concentración de colesterol, elevar la concentración plasmática de lipoproteína de alta densidad, y para tratar, evitar o reducir el riesgo de desarrollar aterosclerosis.

Adicionalmente, una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I (o fórmula II o fórmula III) y una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más agentes activos seleccionados del grupo que consiste en: un agente antihiperlipidémico; un agente elevador de HDL en plasma; un agente antihipercolesterolérico, tal como un inhibidor de la síntesis de colesterol, por ejemplo, un inhibidor de la HMG-CoA reductasa, un inhibidor de la HMG-CoA sintasa, un inhibidor de la escualeno epoxidasa o un inhibidor de la escualeno sintetasa (también conocido como inhibidor de la escualeno sintasa); un inhibidor de la acil-coenzima A colesterol aciltransferasa, probucol; ácido nicotínico y sus sales; niacinamida; un inhibidor de la absorción del colesterol; una resina de intercambio aniónico secuestrante de ácidos biliares; un inductor de receptor de lipoproteína de baja densidad; clofibrato, fenofibrato y gemfibrozil; vitamina B₆ y sus sales farmacéuticamente aceptables; vitamina B₁₂; una vitamina antioxidante; un β bloqueante; un antagonista de la angiotensina II; un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina, un inhibidor de la agregación plaquetaria, un antagonista del receptor de fibrinógeno; aspirina; fentiraminas, agonistas del receptor adrenérgico β_3 ; sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la α -glucosidasa, otros secretagogos de la insulina e insulina, pueden usarse conjuntamente para la preparación de una composición farmacéutica útil para los tratamientos descritos anteriormente.

(4) Formulaciones farmacéuticas y métodos de administración

En la presente divulgación, los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III pueden suministrarse o administrarse a un mamífero, por ejemplo, un paciente o sujeto humano, solos, en forma de una de sus sales o precursores hidrolizables farmacéuticamente aceptables, o en forma de una composición farmacéutica donde el compuesto está mezclado con vehículos o excipiente(s) adecuados en una cantidad terapéuticamente eficaz. Con "una dosis terapéuticamente eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o, indistintamente, "dosis farmacéuticamente aceptable" o "cantidad farmacéuticamente aceptable", quiere decirse que estarán presentes una cantidad suficiente del compuesto de la presente divulgación, de forma alternativa, una combinación, por ejemplo, un compuesto de la

presente divulgación, sustancialmente sin su estereoisómero (+), y un vehículo farmacéuticamente aceptable, con el fin de lograr un resultado deseado, por ejemplo, aliviar un síntoma o complicación de la diabetes de tipo 2.

5 Los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III que se usan en la presente divulgación pueden incorporarse en una variedad de formulaciones para su administración terapéutica. Más en particular, los compuestos de fórmula I (o fórmula II o fórmula III) pueden formularse en composiciones farmacéuticas mediante combinación con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, apropiados y pueden formularse en preparaciones en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas, tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, grageas, geles, suspensiones, pomadas, soluciones, supositorios, inyectables, inhalables y aerosoles. Como tal, la administración de
10 los compuestos puede lograrse de diversas formas, incluida la administración oral, bucal, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, intratraqueal. Además, el compuesto puede administrarse de una manera local, en lugar de sistémica, en una formulación de depósito o de liberación mantenida. Además, los compuestos pueden administrarse en un liposoma.

15 Además, los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III pueden formularse con excipientes, diluyentes o vehículos comunes y comprimirse en comprimidos o formularse como elixires o soluciones para una administración oral cómoda, o administrarse por las vías intramuscular o intravenosa. Los compuestos pueden administrarse por vía transdérmica y pueden formularse como formas de dosificación de liberación mantenida y similares.

20 Los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III pueden administrarse solos, combinados entre sí o pueden usarse en combinación con otros compuestos conocidos (analizado anteriormente). En formas de dosificación farmacéuticas, los compuestos pueden administrarse en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables. Pueden contener restos hidrolizables. También pueden usarse solos o en asociación apropiada, así como en combinación con, otros compuestos farmacéuticamente activos.

25 En *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Publishing Company (1985) Filadelfia, PA, 17^a ed.) se encuentran formulaciones adecuadas para su uso en la presente invención. Además, para una breve revisión de métodos para administración de fármacos, véase, Langer, *Science* (1990) 249:1527-1533. Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden fabricarse de una manera que es conocida por los expertos en la técnica, es decir, por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, formación de grageas, trituración, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Los siguientes métodos y excipientes son
30 meramente ejemplares.

35 Para inyectables, los agentes pueden formularse en preparaciones mediante su disolución, suspensión o emulsión en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceite vegetal u otros aceites similares, glicéridos ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; y, si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizantes y conservantes. Preferentemente, los compuestos de la presente invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles, tales como solución de Hank, solución de Ringer o
40 tampón de solución salina fisiológica. Para la administración transmucosa, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera que se va a permear. En general, tales penetrantes se conocen en la técnica.

45 Para administración oral, los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III pueden formularse fácilmente mediante combinación con vehículos farmacéuticamente aceptables que son bien conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten que los compuestos se formen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, emulsiones, suspensiones lipófilas e hidrófilas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones densas, suspensiones y similares, para ingestión oral por un paciente que se va a tratar. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse mediante la mezcla de los compuestos con excipientes sólidos, moliendo opcionalmente una mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, tras añadir sustancias auxiliares adecuadas, si se desea, para obtener núcleos de comprimidos o grageas. Los excipientes útiles son, en particular, cargas tales como azúcares, incluidas lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como la polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una de sus sales tal como alginato de sodio.
50

55 Los núcleos de las grageas se proveen de recubrimientos adecuados. Para este propósito, pueden usarse soluciones de azúcar concentradas, que pueden contener opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel de carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes o mezclas de disolventes orgánicos adecuados. Pueden añadirse tintes o pigmentos a los recubrimientos de comprimidos o grageas para su
60 identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.

65 Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse oralmente incluyen cápsulas duras fabricadas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas fabricadas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. 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 de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites

grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden añadirse estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deberían estar en dosificaciones adecuadas para dicha administración.

5 Para administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o de pastillas para chupar formuladas de manera convencional.

10 Para administración por inhalación, los compuestos para su uso de acuerdo con la presente divulgación se administran convenientemente en forma de presentación de pulverizador de aerosol desde envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado, o desde inhaladores de polvo seco sin propulsor. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos, por ejemplo, de gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contiene una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

15 Los compuestos pueden formularse para administración parenteral por inyección, por ejemplo, mediante inyección intravenosa rápida o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos acuosos u oleosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

20 Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Adicionalmente, pueden prepararse suspensiones de los compuestos activos como suspensiones oleosas para inyección adecuadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones inyectables acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetil celulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones muy concentradas. De forma alternativa, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril sin pirogenos, antes de su uso.

25 Los compuestos también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contengan bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao, Carbowax, polietilenglicoles u otros triglicéridos, todas las cuales se funden a la temperatura corporal, si bien están solidificadas a temperatura ambiente.

30 Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos también pueden formularse como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada pueden administrarse mediante implantes (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico o como derivados muy poco solubles, por ejemplo, como una sal muy poco soluble.

35 De forma alternativa, pueden emplearse otros sistemas de administración para compuestos farmacéuticos hidrófobos. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos o transportadores de administración para fármacos hidrófobos. En una realización preferida actualmente, pueden emplearse liposomas de circulación prolongada, es decir, sigilosos. Tales liposomas se describen, en general, en la patente de EE.UU. n.º 5.013.556 de Woodle *et al.*. Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse por medios de liberación controlada y/o dispositivos de administración tales como los descritos en las patentes de EE.UU. n.º 3.845.770, 3.916.899, 3.536.809, 3.598.123 y 4.008.719.

40 También pueden emplearse determinados disolventes orgánicos, tales como dimetilsulfóxido (DMSO), aunque habitualmente a costa de una mayor toxicidad. Adicionalmente, los compuestos pueden administrarse usando un sistema de liberación mantenida, tal como matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido y son bien conocidos por los expertos en la técnica diversos tipos de materiales de liberación mantenida. En función de su naturaleza química, las cápsulas de liberación mantenida pueden liberar los compuestos durante desde unas pocas horas hasta más de 100 días.

45 Las composiciones farmacéuticas pueden comprender también vehículos o excipientes en fase sólida o gel adecuados. Los ejemplos de tales vehículos o excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

50 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen composiciones en las que los ingredientes activos están contenidos en una cantidad terapéuticamente eficaz. Por supuesto, la cantidad de

composición administrada dependerá del sujeto que se está tratando, el peso del sujeto, la gravedad de la afección, la manera de administración y el criterio del médico encargado que la prescribe. La determinación de una cantidad eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, especialmente a la vista de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

5 Para cualquier compuesto usado en la presente divulgación, puede calcularse inicialmente una dosis terapéuticamente eficaz a partir de ensayos de cultivos celulares o modelos animales.

10 Además, la toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos descritos en el presente documento pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o en animales de experimentación, por ejemplo, determinando 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 proporción de dosis entre efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico y puede expresarse como la proporción entre DL_{50} y DE_{50} . Se prefieren compuestos que muestran índices terapéuticos altos. Los datos obtenidos a partir de estos ensayos en cultivo celular y estudios en animales
15 pueden usarse en la formulación de un intervalo de dosificación que no sea tóxico para su uso en seres humanos. La dosificación de tales compuestos se encuentra preferentemente dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluyen la DE_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo en función de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. La formulación, la vía de administración y la dosificación exactas pueden escogerse por el médico individual en vista de la afección del
20 paciente. (Véase, por ejemplo, Finigl *et al* 1975 en: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, cap. 1).

La cantidad de compuesto activo que puede combinarse con un material de vehículo para producir una forma de dosificación única variará en función de la enfermedad tratada, la especie de mamífero y el modo de administración particular. No obstante, como guía general, las dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente
25 invención pueden contener preferentemente, por ejemplo, entre 100 mg y aproximadamente 3000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida está entre 500 mg y aproximadamente 1500 mg. Una dosis unitaria más preferida está entre 500 y aproximadamente 1000 mg. Tales dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6 veces al día, pero preferentemente 1 o 2 veces al día, de forma que la dosificación diaria total para un adulto de 70 kg está en el intervalo de 0,1 a aproximadamente 250 mg por kg del sujeto por administración.
30 Una dosis preferida es de 5 hasta aproximadamente 250 mg por kg de peso del sujeto por administración, y un tratamiento tal puede prolongarse durante una serie de semanas o meses y, en algunos casos, años. No obstante, se entenderá que la concentración de dosis específica para cualquier paciente en particular dependerá de una variedad de factores, incluidos la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la alimentación del individuo que se está tratando; el tiempo y la vía de administración; la
35 velocidad de eliminación; otros fármacos que se habían administrado anteriormente; y la gravedad de la enfermedad en particular que se somete a tratamiento, como se entiende bien por los expertos en el área.

Una dosificación típica puede ser un comprimido de 10 hasta aproximadamente 1500 mg tomado una vez al día o varias veces al día o una cápsula o comprimido de liberación prolongada una vez al día y que contenga un contenido
40 proporcionalmente más alto de ingrediente activo. El efecto de liberación prolongada puede obtenerse mediante materiales de cápsula que se disuelven a diferentes valores de pH, mediante cápsulas que liberan lentamente por presión osmótica o por cualquier otro medio conocido de liberación controlada.

Puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos intervalos en algunos casos, como resultará evidente para
45 los expertos en la técnica. Además, cabe destacar que el profesional clínico o médico responsable sabrá cómo y cuándo interrumpir, ajustar o finalizar un tratamiento en relación con la respuesta individual del paciente.

(5) Grupos protectores

50 Determinados compuestos que tienen la estructura general de la fórmula I y II pueden requerir el uso de grupos protectores para permitir su elaboración satisfactoria en la estructura deseada. Pueden escogerse grupos protectores con referencia a Greene, T. W., *et al.*, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc., 1991. Los grupos bloqueantes pueden eliminarse fácilmente, es decir, pueden eliminarse, si se desea, mediante
55 procedimientos que no provocarán la escisión u otra alteración de las partes restantes de la molécula. Tales procedimientos incluyen hidrólisis química y enzimática, tratamiento con agentes químicos reductores u oxidantes bajo condiciones suaves, tratamiento con ion fluoruro, tratamiento con un catalizador de metal de transición y un nucleófilo e hidrogenación catalítica.

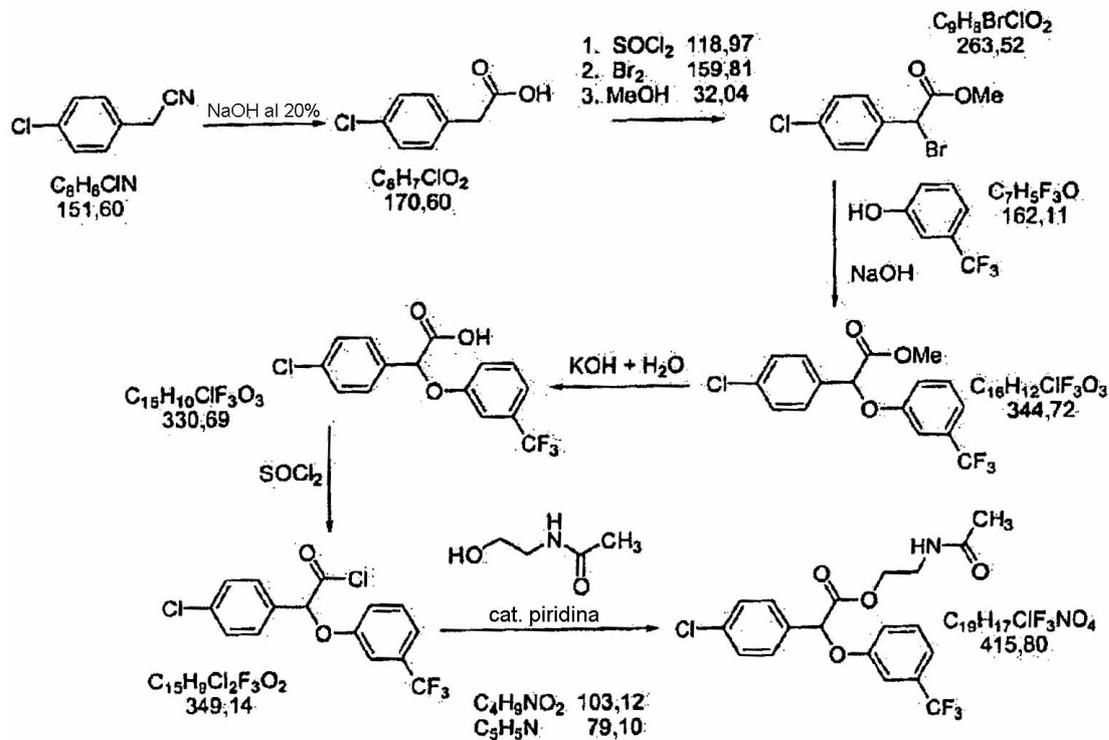
Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo adecuados son: trimetilsililo, trietilsililo, o-nitrobenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, t-butildifenilsililo, t-butildimetilsililo, benciloxicarbonilo, t-butiloxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetiloxicarbonilo y aliloxicarbonilo. Los ejemplos de grupos protectores de carboxilo adecuados son 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, acetonoilo, p-metoxifenilo, 4-piridilmetilo y t-butilo.

65 (6) Proceso

Los procesos para preparar los compuestos de la presente divulgación se representan en general en los esquemas 1 y 2 (y se describen con más detalle en los ejemplos):

Esquema 1:

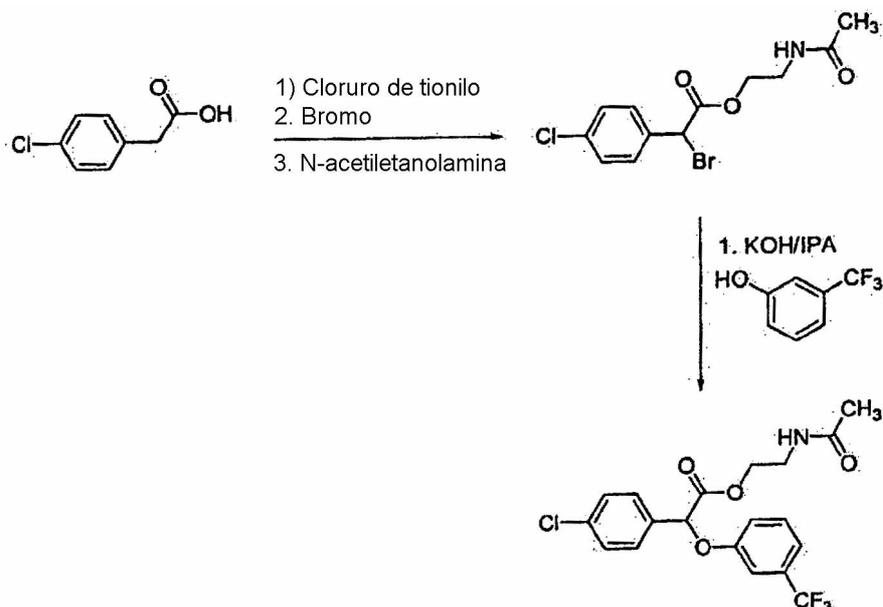
5



De acuerdo con el esquema 1, se convierte un fenilacetnitrilo sustituido en un ácido fenilacético sustituido. El ácido fenilacético sustituido se convierte en un derivado de ácido activado (por ejemplo, cloruro de ácido), seguido de halogenación en el carbono alfa y esterificación con un alcohol. El éster halogenado se trata con un fenol sustituido (por ejemplo, 3-trifluorometilfenol), proporcionando un éter de arilo, que se hidroliza para formar un derivado de ácido carboxílico. El ácido derivado se convierte en un derivado de ácido activado y posteriormente se trata con un nucleófilo (por ejemplo, N-acetiletanolamina) para proporcionar el producto deseado.

10

15 Esquema 2:



De acuerdo con el esquema 2, un ácido fenilacético sustituido se convierte en un derivado de ácido activado (por ejemplo, cloruro de ácido) seguido por halogenación en el carbono alfa. La parte de ácido activado de la molécula se hace reaccionar con un nucleófilo (por ejemplo, N-acetiletanolamina) para proporcionar un ácido protegido. El ácido halogenado protegido se trata con un fenol sustituido (por ejemplo, 3-trifluorometilfenol), proporcionando el producto deseado.

Los estereoisómeros de los compuestos de la presente divulgación pueden prepararse usando reactantes o reactivos o catalizadores en su forma enantiomérica única en el método cuando sea posible o resolviendo la mezcla de estereoisómeros mediante métodos convencionales analizados anteriormente y en los ejemplos. Algunos de los métodos preferidos incluyen el uso de resolución microbiana, la resolución de sales diastereoméricas formadas con ácidos quirales o bases quirales y cromatografía usando soportes quirales.

(7) Kits

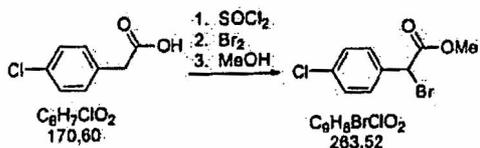
Además, la presente divulgación proporciona kits con dosis unitarias de los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III en dosis orales o inyectables. Además de los envases que contienen las dosis unitarias, existirá un prospecto informativo en el embalaje que describa el uso y los beneficios esperados de los fármacos en el alivio de los síntomas y/o complicaciones asociados con la diabetes de tipo 2, así como en el alivio de la hiperlipidemia y la hiperuricemia. Los compuestos y dosis unitarias preferidos son los descritos anteriormente en el presente documento.

Ejemplos

Los compuestos de fórmula I, fórmula II y fórmula III de la presente divulgación pueden prepararse fácilmente usando el método descrito en el esquema 1, anteriormente, y a partir de los ejemplos siguientes.

Ejemplo 1

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

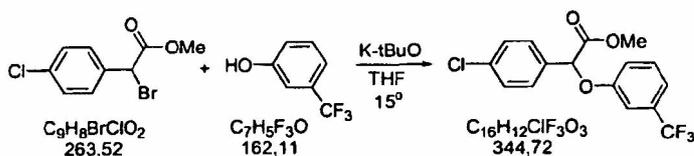


El compuesto inicial recogido en el esquema 1, es decir, el ácido 4-clorofenilacético, está disponible fácilmente de varias procedencias comerciales (por ejemplo, Aldrich y Fluka).

Se purgó a través de un lavador de gas un reactor Morton de 5 l equipado con un agitador magnético, un control de temperatura del recipiente y embudo de adición y se cargó con ácido p-clorofenilacético (720 g, 4,2 mol) y SOCl₂ (390 ml, 630 g, 5,3 mol). La reacción se agitó, se calentó y se mantuvo a 55 ° ± 5 °C durante 1 hora. Después se añadió bromo (220 ml, 670 g, 5,3 mol) durante 20 min y se agitó a 55 ° ± 5 °C durante 16 horas. Se elevó la temperatura hasta 80 °C durante 7 horas y después se enfrió hasta 9 °C en un baño de agua y hielo. Después se añadió cuidadosamente metanol (2,0 l, 1,6 kg, 49,4 mol). Se extrajo el disolvente para obtener 2 líquidos con un peso de 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 g de MgSO₄. Esto se filtró a través de papel de filtro Whatman n.º 1 y se extrajo del disolvente para obtener 0,985 kg de líquido naranja. La RMN de protón mostró que era un 80 % de producto y un 19 % de éster no bromado. La HPLC mostró un 82 % de producto y un 18 % de éster no bromado. La HPLC se efectuó en una columna SB-C8 de Zorbax a 30 °C que medía 250 x 4,6 mm y con 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 producto tuvo un tiempo de retención de 5,0 min y el del éster no bromado fue de 3,8 min. Este producto en bruto se purificó mediante destilación a vacío para obtener un producto puro al 96 % con un rendimiento del 84 %. La RMN de protón del producto (CDCl₃, 300 MHz) mostró desplazamientos a 3,79 (s, 3H), 5,32 (s, 1H) y 7,20-7,55 (m, 4H) ppm.

Ejemplo 2

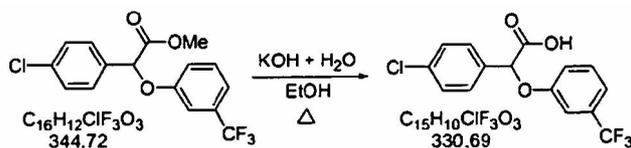
Este ejemplo se refiere a la preparación de 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato de metilo.



Esta etapa fue similar a la misma etapa en el documento US 3517050 con una excepción, se usó t-butóxido de potasio en lugar de metóxido de sodio para evitar la generación del éter metílico correspondiente. Se cargó un reactor Morton de 5 l equipado con un agitador superior, un detector de temperatura del recipiente y embudo de adición y bajo atmósfera de nitrógeno con bromo-(4-clorofenil) acetato de metilo (830 g, 3,0 mol) y THF (600 ml). El reactor se enfrió hasta $14 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ en un baño de agua y hielo y después se añadió una solución enfriada de forma similar de trifluorometil-m-cresol (530 g, 3,3 mol) en t-butóxido de potasio 1,0 M en THF (3,1 l, 3,1 mol). La reacción se desarrolló de forma exotérmica con un aumento de temperatura normal de más de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ y la adición se controló para mantener una temperatura de $15 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La HPLC se efectuó en una columna SB-C8 de Zorbax a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ que medía $250 \times 4,6 \text{ mm}$ y con un tamaño de partícula de 5μ . La fase móvil fue 60:40 (v:v) de acetonitrilo: H_3PO_4 al 0,1 % a 1,5 ml/min. La detección se realizó a 210 nm. La muestra inyectada de $1 \mu\text{l}$ se disolvió en acetonitrilo a una concentración de 10 mg/ml. El producto tuvo un tiempo de retención de 9,6 min, el éster de partida eluyó a los 5,0 min, el fenol a los 3,0 y el éster no bromado a los 3,8 min. El disolvente se extrajo usando un evaporador rotatorio para obtener una nieve húmeda amarilla 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) seguido por 1,6 l de agua y, finalmente, 1,6 l de NaCl acuoso al 25 % (p:p). La fase orgánica se secó sobre 0,32 kg de MgSO_4 y se filtró a través de papel de filtro Whatman n.º 1. Se extrajo el disolvente para obtener 1,0 kg de cristales blanquecinos húmedos. Esto se recrystalizó en el evaporador rotatorio disolviendo en 1,0 l de metilciclohexano a $75 \text{ }^\circ\text{C}$ y después enfriando hasta $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Los cristales se filtraron a través de papel de filtro Whatman n.º 1 y se lavaron con tres partes de 0,25 l de metilciclohexano frío ($15 \text{ }^\circ\text{C}$). El producto húmedo (0,97 kg) se secó durante una noche para obtener 0,81 kg de producto puro al 98 % que corresponde a un rendimiento del 79 %. La RMN de protón del producto (CDCl_3 , 300 MHz) muestra desplazamientos a 3,75 (s, 3H), 5,63 (s, 1H) y 7,05-7,55 (m, 8H).

Ejemplo 3

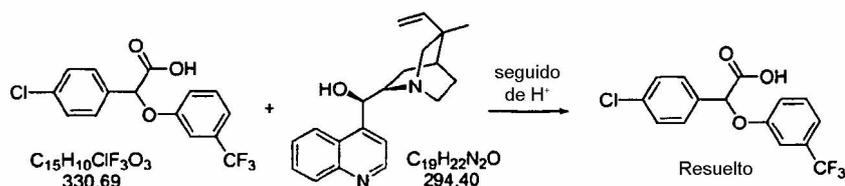
Este ejemplo se refiere a la preparación de ácido 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético.



Se cargó un reactor Morton de 12 l con agitador magnético, controlador de temperatura del recipiente, un condensador de reflujo y bajo atmósfera de nitrógeno, con 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato de metilo (810 g, 2,3 mol) y etanol absoluto (5,8 l) y se calentó con agitación hasta $57 \text{ }^\circ\text{C}$ para disolver el sólido. Se añadió una solución de KOH (520 g, 9,3 mol) en 0,98 l de agua. La solución se sometió a reflujo durante 30 min y se extrajo el disolvente mediante un evaporador rotatorio para obtener 2,03 kg de una mezcla de dos líquidos casi incoloros. Éstos se disolvieron en agua (16 l) y se trataron con 16 g de Norit neutro, después se filtraron a través de una almohadilla de tierra de infusorios retenida en papel de filtro Whatman n.º 1. El pH del filtrado se redujo desde un intervalo inicial de 13 hasta un intervalo de 1 a 2 mediante la adición de un total de 2,75 l de HCl 3 M (8,25 mol). Se formó un sólido muy pegajoso después de la adición de los primeros 2,30 l de ácido y en este punto se añadió éter (7 l). Se separaron las dos fases y la fase orgánica se secó sobre MgSO_4 (230 g) y se filtró a través de papel de filtro Whatman n.º 1. Después, se extrajo el disolvente para obtener 0,85 kg de jarabe transparente blanco. Después, se recrystalizó el material en el evaporador rotatorio mediante la adición de metilciclohexano (800 ml) y enfriando hasta $18 \text{ }^\circ\text{C}$ con rotación lenta. La temperatura se hizo descender entonces hasta $5 \text{ }^\circ\text{C}$, se filtraron los cristales y se lavaron 5 veces con partes de 0,10 l de metilciclohexano frío ($0 \text{ }^\circ\text{C}$) 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 de protón. La RMN de protón del producto (CDCl_3 , 300 MHz) muestra desplazamientos a 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 enantiómeros resueltos del ácido 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético.



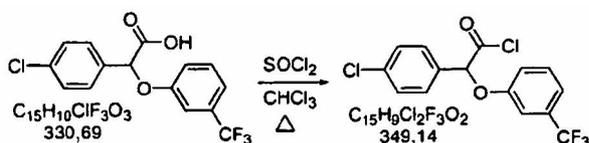
Se cargó un reactor Morton de 12 l de tapa abierta con un agitador superior con ácido 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético (350 g, 1,06 mol) e isopropanol (4,0 l) y se calentó hasta $65 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$. Se añadió una suspensión de cinchonidina (-) (300 g, 1,02 mol) en isopropanol (2,0 l), aclarando todo el sólido al interior del reactor con 0,8 l de isopropanol adicionales. La temperatura se redujo desde $65 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta $56 \text{ }^\circ\text{C}$ y se formó en último término una solución naranja transparente y se mantuvo la mezcla a $55 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 horas. Se recogieron cristales finos mediante filtración a través de un papel de filtro Whatman n.º 1, lavando una vez con 0,7 l de isopropanol caliente ($55 \text{ }^\circ\text{C}$). Los cristales se secaron durante 16 horas a temperatura ambiente en un horno a vacío de 12,6 l bajo un flujo de nitrógeno de 5 lpm. El sólido seco pesó 0,37 kg y tenía un exceso enantiomérico (ee) del 80 % del enantiómero (+). El exceso enantiomérico se determinó por HPLC usando una columna R,R-WhelkO-I de 250 x 4,6 mm a temperatura ambiente. Las muestras inyectadas fueron de 20 μl de soluciones 2 mg/ml de las muestras en etanol. La columna se eluyó con 95:5:0,4 de hexano:isopropanol:ácido acético a un flujo de 1 ml/min. La detección se realizó a 210 nm. El enantiómero (+) eluyó a los 7 a 8 min y el enantiómero (-) a los 11 a 13 min. El licor madre proporcionó una segunda tanda casi inmediatamente que se filtró, se lavó y se secó para dar 0,06 kg de sal que tiene un ee del 90 % del enantiómero (-). De forma similar, se obtuvieron una tercera, una cuarta y una quinta tanda con pesos de 0,03 kg, 0,03 kg y 0,7 kg respectivamente; con excesos del enantiómero (-) del 88 %, el 89 % y el 92 %, respectivamente.

Se recrystalizó la sal (+) en bruto (320 g) a partir de una mezcla de etanol (5,9 l) y metanol (1,2 l). Se calentó la mezcla con agitación superior para disolverla, se enfrió a temperatura ambiente durante 16 horas, se filtró y se lavó dos veces con 0,20 l de etanol:metanol 5:1 (v:v). Se secaron los cristales para obtener 0,24 kg del enantiómero (+) que tenía un ee del 97 %. Esto se corresponde con una recuperación del 80 % de este isómero. Se suspendió la sal resuelta en una mezcla de éter (6,5 l) y agua (4,0 l) con agitación superior. El pH se redujo hasta 0-1 medido por medio de tiras indicadoras de pH con una solución de H_2SO_4 concentrado (0,13 l) en agua (2,5 l). Se separaron las fases y la fase orgánica y se lavó dos veces con partes de 6,5 l de agua. Se añadió éter (1,9 l) y la fase orgánica se lavó una vez más con 6,5 l de agua. Después de la separación final, se añadieron 0,1 l de NaCl acuoso al 25 % (p:p) para limpiar cualquier leve emulsión. Se secó el producto sobre 0,19 kg de MgSO_4 , se filtró y se eliminó el disolvente para obtener 0,13 kg de jarabe transparente blanco que solidifica al enfriarse. Esto corresponde a una recuperación del 97 % de producto que tenía un ee del 95 % del enantiómero (+). $[\alpha]_D^{25} +5,814^\circ$ (c.=0,069 en alcohol metílico).

Se recrystalizó la sal en bruto (-) combinada (200 g) a partir de isopropanol (3,1 l). Se calentó la mezcla para disolver casi todo el sólido y se filtró rápidamente para eliminar sólidos insolubles. Después, se enfrió la mezcla con agitación a temperatura ambiente durante 16 horas, se filtró, se lavó y se secó para obtener 0,16 kg del enantiómero (-) que tiene un ee del 97 %. Esto corresponde a una recuperación del 49 % de este isómero. Se aisló el enantiómero (-) del ácido de la misma manera descrita anteriormente para el ácido (+). Se suspendió la sal resuelta en éter y agua, se redujo el pH con H_2SO_4 concentrado y se extrajo el producto de la fase orgánica.

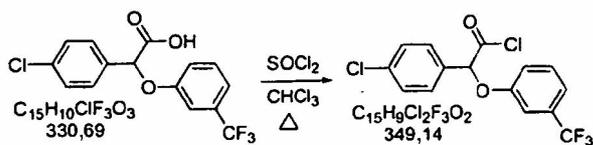
Ejemplo 5

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



Se cargó un matraz de evaporación de 2 l con agitador magnético, adaptador de Claissen, termómetro de recipiente y un condensador de reflujo dirigido a un lavador de gas, con ácido (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético (143 g, 0,42 mol basado en una pureza del 97 %) y CHCl_3 (170 ml) y se calentó hasta ebullición para disolverlo. Se añadió SOCl_2 (38 ml, 62,1 g, 0,52 mol). Se calentó la mezcla a reflujo ($68 \text{ }^\circ\text{C}$ finales) durante 4,5 horas y después se extrajeron los compuestos volátiles para obtener 151 g de un líquido amarillo turbio (103 % de rendimiento aparente). El material se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

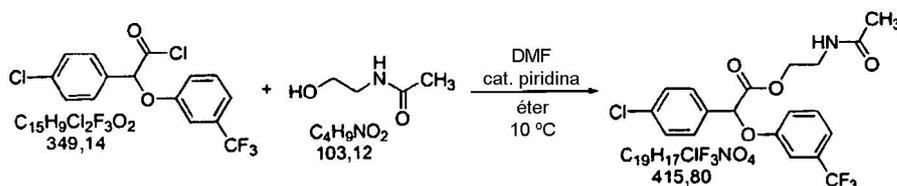
B. Preparación de cloruro de (+) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetilo



Se cargó un matraz de evaporación de 3 l con agitador magnético, adaptador de Claissen, termómetro de recipiente y un condensador de reflujo dirigido a un lavador de gas, con ácido (+) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acético (131 g, 0,37 mol) y CHCl_3 (152 ml) y se calentó hasta ebullición para disolverlo. Se añadió SOCl_2 (35 ml, 56,5 g, 0,48 mol). Se calentó a mezcla a reflujo (70 °C finales) durante 4 horas y después se extrajeron los compuestos volátiles para obtener 139 g de líquido. El material se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

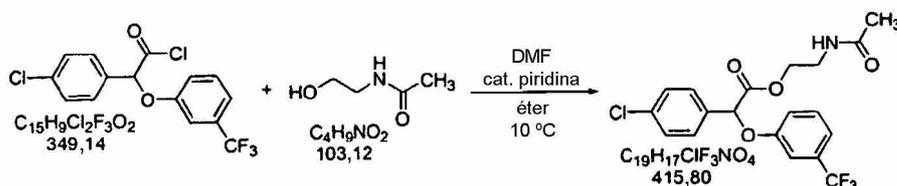
Ejemplo 6

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



Se cargó un matraz de fondo redondo con agitador magnético, termómetro de recipiente, bajo una atmósfera de nitrógeno en un baño de agua y hielo, con DMF (420 ml), piridina (37 ml, 36 g, 0,46 mol) y N-acetoetanolamina (39 ml, 43 g, 0,42 mol). Se enfrió la mezcla hasta de 0 ° a 5 °C y se añadió una solución de cloruro de (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetilo en bruto (151 g, 0,42 mol basado en un rendimiento del 100 % en la etapa anterior) en éter (170 ml) durante un periodo de 40 min, con el fin de mantener la temperatura del recipiente por debajo de los 13 °C. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 horas y se disolvió mediante la adición de agua (960 ml) seguida de acetato de etilo (630 ml). La adición de agua se desarrolló de forma exotérmica elevando la temperatura desde 24 ° hasta 34 °C. La adición de acetato de etilo provocó un descenso de temperatura hasta 30 °C. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo una vez con acetato de etilo (125 ml). Se extrajeron las fases orgánicas combinadas una vez con NaHCO_3 acuoso al 7 % (p:p) (125 ml) y cinco veces con partes de 60 ml de agua y después dos veces con partes de 60 ml de NaCl acuoso al 25 % (p:p). El producto se secó sobre MgSO_4 (42 g) y se filtró a través de papel de filtro Whatman n.º 1. Se extrajo el disolvente usando un evaporador rotatorio para obtener 160 g de un jarabe amarillo correspondiente a un rendimiento del 80 % basado en la RMN de protón que muestra el 87 % de producto, el 8 % de EtOAc, el 4 % de amida no bromada y el 1 % de DMF. Este jarabe se disolvió en MTBE (225 ml) a temperatura ambiente y se añadieron hexanos muy fríos (-15 °C) al 85 % (400 ml) con agitación. Se formaron dos líquidos, después cristales y después la mezcla formó un sólido. La masa de sólido se raspó sobre un embudo Buchner dotado de Whatman n.º 1, se compactó y se lavó tres veces con partes de 100 ml de MTBE:hexanos 1:1 (v:v) para obtener 312 g de producto húmedo que se seca para dar 127 g, correspondientes a un rendimiento del 73 %.

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



Se cargó un matraz de fondo redondo de 3 l con agitador magnético, termómetro de recipiente, bajo una atmósfera de nitrógeno en un baño de agua y hielo, con DMF (365 ml), piridina (33 ml, 32,3 g, 0,41 mol) y N-acetoetanolamina (34 ml, 38,1 g, 0,37 mol). Se enfrió la mezcla hasta de 0 ° a 5 °C y se añadió una solución de cloruro de (+) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetilo en bruto (139 g, 0,37 mol basado en un rendimiento del 100 % en la etapa anterior) en éter (155 ml) durante un periodo de 25 min, con el fin de mantener la temperatura del recipiente por debajo de los 13 °C. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 40 horas y se disolvió mediante la adición de agua (850 ml) seguida de acetato de etilo (550 ml). La adición de agua se desarrolló de forma exotérmica elevando la temperatura desde 24 ° hasta 34 °C. La adición de acetato de etilo provocó un descenso de temperatura hasta 30 °C. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo una vez con acetato de etilo (110 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas dos veces con partes de 55 ml de agua y después cinco veces con partes de 55 ml de

NaCl acuoso al 25 % (p:p) y se secó sobre 30 g de MgSO₄ y se filtró a través de papel de filtro Whatman n.º 1. Se extrajo el disolvente usando un evaporador rotatorio para obtener 168 g de líquido amarillo correspondiente a un rendimiento del 86 % basado en la RMN de protón que muestra el 79 % de producto, el 9 % de EtOAc, el 8 % de amida no bromada y el 4 % de DMF. Se cristalizó el producto en un vaso de precipitados de 800 ml mediante su disolución en MTBE (200 ml) a temperatura ambiente, enfriamiento a -15 °C durante 1,4 horas, adición de 200 ml de hexanos al 85 % y enfriamiento posterior durante 1 hora. La masa de sólido se raspó sobre un embudo Buchner dotado de Whatman n.º 1, se compactó y se lavó una vez con MTBE:hexanos 1:1 (v:v) (100 ml) para obtener 201 g de producto húmero. Se secó el producto bajo flujo 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. $[\alpha]_{D+2,769}^{\circ}$ (c.=0,048 en alcohol metílico). $[\alpha]_{D-2,716}^{\circ}$ (c.=0,049 en alcohol metílico). Los enantiómeros (+) y (-) también se analizaron por HPLC usando una columna R,R-WhelkO-I de 250 x 4,6 mm a temperatura ambiente. Las muestras inyectadas fueron de 20 µl de soluciones 2 mg/ml de las muestras en etanol. La columna se eluyó con 60:40 de isopropanol:hexano a un flujo de 1 ml/min. La detección se realizó a 220 nm. El enantiómero (+) eluyó a los 5,0 a 5,2 min y el enantiómero (-) a los 5,7 a 5,9 min.

Ejemplo 7

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

Se ensayó la actividad de hidroxilación de la tolbutamida (¹⁴C-tolbutamida 100 µM; NADPH 1 mM) en microsomas hepáticos humanos combinados (0,6 mg de proteína/ml) durante 60 minutos a 37 °C con y sin compuestos de prueba. Se probaron ácido halofénico racémico, ácido (-) halofénico y ácido (+) halofénico (0,25 µM a 40 µM). Como se muestra en la figura 1, el ácido halofénico racémico inhibió la actividad de hidroxilación de la tolbutamida mediada por CYP2C9 en microsomas hepáticos humanos con una CI₅₀ aparente de 0,45 µM. Se observó una diferencia sustancial en la capacidad de los enantiómeros de ácido halofénico para inhibir el CYP2C9. El ácido (+) halofénico tenía una CI₅₀ aparente de 0,22 µM, mientras que el ácido (-) halofénico fue casi 20 veces menos potente con una CI₅₀ de 3,6 µM.

Ejemplo 8

Este ejemplo se refiere al curso temporal de la disminución de glucosa para los compuestos de la presente divulgación.

A. Material y métodos

Se adquirieron ratones C57BL/6J ob/ob macho de 9-10 semanas de edad de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). Los animales se alojaron (4-5 ratones/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y 50 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación de pienso para roedores de Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se usaron ratones que tenían concentraciones plasmáticas de glucosa sin ayuno de entre 300 y 500 mg/dl. Cada grupo de tratamiento consistió en 10 ratones que se distribuyeron de modo que las concentraciones medias de glucosa eran equivalentes en cada grupo al inicio del estudio. A los ratones se les dosificó por vía oral una vez mediante sonda, bien vehículo, halofenato racémico (250 mg/kg), (-) halofenato (250 mg/kg) o (+) halofenato (250 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 mediante la sonda fue de 10 ml/kg. Se tomaron muestras de sangre 1,5, 3, 4,5, 6, 7,5, 9 y 24 horas después de la dosis y se analizaron para evaluar la glucosa plasmática. Las concentraciones plasmáticas de glucosa se determinaron de forma colorimétrica usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical, San Luis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significación entre grupos (comparando grupos tratados con fármaco y tratados con vehículo o entre tratados con fármaco) usando la prueba de la t de Student independiente.

B. Resultados

Como se ilustra en la figura 2, el halofenato racémico redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa en la mayoría de los puntos temporales con la actividad máxima a las 9 horas. El (-) halofenato mostró una reducción de la glucosa plasmática tan pronto como a las 1,5 horas y alcanzó su actividad máxima a las 3 horas. Las concentraciones plasmáticas de glucosa permanecieron bajas hasta las 24 horas. El (+) halofenato no mostró una actividad significativa hasta las 4,5 horas y la actividad máxima fue a las 7,5 horas. La glucosa plasmática empezó a recuperarse después. Existieron diferencias significativas entre los enantiómeros (-) y (+) del halofenato en los puntos temporales a las 3 y a las 24 horas. La actividad del (-) halofenato comenzó más rápido y se mantuvo durante más tiempo.

Ejemplo 9

Este ejemplo se refiere a la actividad de disminución de la glucosa de los compuestos de la presente divulgación.

A. Materiales y métodos

5 Se adquirieron 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) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y 50 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación de pienso para roedores de Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se usaron ratones que tenían concentraciones plasmáticas de glucosa sin ayuno de entre 300 y 520 mg/dl. Cada grupo de tratamiento consistió en 10 ratones que se distribuyeron de modo que las concentraciones medias de glucosa eran equivalentes en cada grupo al inicio del estudio. A los ratones se les dosificó por vía oral una vez al día durante 5 días, bien vehículo, halofenato racémico (250 mg/kg), (-) halofenato (125 y 250 mg/kg) o (+) halofenato (125 y 250 mg/kg). El halofenato racémico se administró en metilcelulosa al 2,7 % (p/v) y tanto el enantiómero (-) como el enantiómero (+) 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 mediante la sonda fue de 10 ml/kg. Se tomaron muestras de sangre 3, 6, 27, 30 y 120 horas después de la primera dosis y se analizaron para evaluar la glucosa y la insulina plasmáticas. Los animales se sometieron a ayuno durante la noche (14 horas) antes de la toma de muestras a las 120 horas. Las concentraciones plasmáticas de glucosa se determinaron de forma colorimétrica usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical, San Luis, MO, EE.UU.). Las concentraciones plasmáticas de insulina se determinaron mediante en uso del kit Rat Insulin RIA de Linco Research Inc. (San Carlos, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significación entre grupos (comparando grupos tratados con fármaco y tratados con vehículo) usando la prueba de la t de Student independiente.

B. Resultados

25 Como se ilustra en la figura 3, el (-) halofenato redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 6, 27 y 30 horas. El (-) halofenato a ambas concentraciones de dosificación redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 6, 27 y 30 horas. La dosis alta (250 mg/kg) también fue activa a las 3 horas. El (+) halofenato a 125 mg/kg mostró reducción de la glucosa plasmática a las 6 y a las 27 horas, mientras que a 250 mg/kg, se observaron concentraciones plasmáticas de glucosa reducidas a las 3, 6, 27 y 30 horas. En la figura 4 se muestran concentraciones plasmáticas de insulina. El halofenato racémico redujo significativamente la insulina a las 6 y a las 27 horas. Las insulinas plasmáticas se redujeron significativamente en el grupo de (-) halofenato a las 27 horas a ambas dosis y se redujo significativamente a las 30 horas en los animales tratados con 250 mg/kg/día. El (+) halofenato redujo significativamente la insulina a las 27 y a las 30 horas a ambas dosis. A 125 mg/kg/día también se observó una reducción significativa después de 6 horas. Después de ayuno durante la noche (a las 120 horas), todos los tratamientos redujeron las concentraciones plasmáticas de glucosa significativamente (figura 5). Las insulinas plasmáticas se redujeron significativamente en todos los grupos tratados con halofenato, excepto el grupo de (+) halofenato a 125 mg/kg/día (figura 6).

40 Ejemplo 10

Este ejemplo se refiere a la mejora de la resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa para los compuestos de la presente divulgación.

45 A. Materiales y métodos

Se alojaron ratas Zucker fa/fa macho de 8-9 semanas de edad (2-3 ratas/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y 50 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación de pienso para roedores de Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se asignaron las ratas a 6 grupos basándose en el peso corporal. Cada grupo de tratamiento consistió en 8 ratas. A las ratas se les dosificó por vía oral una vez mediante sonda, bien vehículo, halofenato racémico (100 mg/kg), (-) halofenato (50 o 100 mg/kg) o (+) 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 mediante la sonda fue de 10 ml/kg. Todas las ratas recibieron una exposición oral a glucosa (1,9 g/kg) 5,5 horas después del tratamiento y 4 horas después de la retirada de la comida. Se tomaron muestras de sangre a los 0, 15, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos tras la exposición a glucosa para medir la glucosa plasmática. Los grupos de vehículo, (-) halofenato (50 mg/kg) y (+) halofenato (50 mg/kg) se sometieron a una exposición a insulina tras la administración por sonda diaria de los correspondientes tratamientos durante 5 días. El día 5, las ratas recibieron la insulina intravenosa (0,75 U/kg) 5,5 horas después de la última dosis y 4 horas después de la retirada de la comida. Se tomaron muestras de sangre a los 3, 6, 9, 12, 15 y 18 minutos tras la inyección de insulina para medir la glucosa plasmática. Las concentraciones plasmáticas de glucosa se determinaron de forma colorimétrica usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical, San Luis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia de significación entre grupos (comparando grupos tratados con fármaco y tratados con vehículo o entre tratados con fármaco) usando la prueba de la t de Student independiente.

65 B. Resultados

Como se ilustra en la figura 7A, las ratas Zucker obesas con intolerancia a la glucosa tenían concentraciones plasmáticas de glucosa más bajas después de una exposición a glucosa tras el tratamiento con halofenato. El (-) halofenato fue el más eficaz en la disminución de la glucosa y tuvo un efecto que se mantuvo durante más tiempo que el del racemato o el 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 en el área de la glucosa con relación a los controles tratados con vehículo. Aunque el ABC disminuyó en los grupos tratados con el racemato o el (+) halofenato, los efectos no fueron tan grandes como en las ratas tratadas con (-) halofenato y las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Los cambios en la sensibilidad a la insulina se evaluaron monitorizando el descenso de la 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 prueba. Como se muestra en la figura 8, la sensibilidad a la insulina mejoró significativamente después de 5 días de tratamiento con (-) halofenato en comparación con los controles tratados con vehículo ($p < 0,01$) y los animales tratados con (+) halofenato ($p < 0,05$). El tratamiento con (+) halofenato tuvo un efecto pequeño sobre la sensibilidad a la insulina que no fue significativamente diferente del control tratado con vehículo ($p = 0,083$). El tratamiento con (-) halofenato redujo sustancialmente la resistencia a la insulina en la rata Zucker obesa, un modelo bien establecido de intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina.

Ejemplo 11

Este ejemplo se refiere a la actividad de disminución de lípidos (referencia) de los compuestos de la presente divulgación.

A. Materiales y métodos

Se obtuvieron ratas Zucker obesas diabéticas (ZDF) macho de GMI Laboratories (Indianapolis, IN) a las 9 semanas de edad. Se administró vehículo o enantiómeros de halofenato mediante sonda oral a diario empezando a los 74 días de edad. Se obtuvieron muestras de sangre iniciales para analizarlas un día antes del tratamiento y a los tiempos indicados en el protocolo de tratamiento. Se analizó la sangre para evaluar los triglicéridos y el colesterol plasmáticos mediante técnicas estándar.

B. Resultados

En el experimento I los animales recibieron una dosis de 25 mg/kg/día. Como se muestra en la figura 9A y la figura 9B, se observó una disminución significativa del colesterol plasmático sólo en animales tratados con el (-) halofenato después de 7 y 13 días de tratamiento. En el experimento II, los animales a los 107 días de edad recibieron dosis diarias de 12,5 mg/kg/día o 37,5 mg/kg/día de los enantiómeros (-) y (+) de halofenato. Como se muestra en la figura 10A y la figura 10B, el colesterol plasmático fue significativamente más bajo con la dosis alta después de 7 días, pero no después de 14 días de tratamiento con el (+) halofenato. En contraste, para el (-) halofenato a la dosis baja, se observó una disminución significativa del colesterol después de 7 días. A la dosis alta, se observó un descenso mucho mayor del colesterol plasmático que resultó evidente después de tanto 7 como 14 días de tratamiento. Como se muestra en la figura 11A y la figura 11B, también se observó una disminución significativa de los triglicéridos plasmáticos 7 días después del tratamiento a la dosis alta que fue de mayor magnitud en animales tratados con el enantiómero (-) de halofenato.

Ejemplo 12

Este ejemplo se refiere a la actividad de disminución de la glucosa de análogos de (\pm) halofenato y análogos de (-) halofenato.

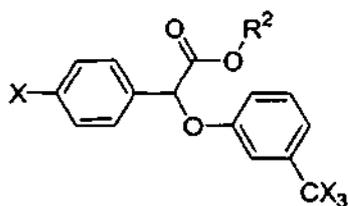
A. Materiales y métodos

Se adquirieron 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) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C de temperatura y 50 ± 20 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación de pienso para roedores de Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se usaron ratones que tenían concentraciones plasmáticas de glucosa sin ayuno de entre 250 y 500 mg/dl. Cada grupo de tratamiento consistió en 8-10 ratones que se distribuyeron de modo que las concentraciones medias de glucosa eran equivalentes en cada grupo al inicio del estudio. A los ratones se les dosificó por vía oral mediante sonda una vez al día durante 1-3 días vehículo, ácido (-) halofénico, (\pm) análogo 14, 29, 33, 34, 35, 36, 37 o 38 a 125 mg/kg o (-) análogo 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 mediante la sonda fue de 10 ml/kg. Se tomaron muestras de sangre a las 6 horas después de cada dosis y se analizaron para evaluar la glucosa plasmática. La ingesta de comida y el peso corporal se midieron diariamente. Las concentraciones plasmáticas de glucosa se determinaron de forma colorimétrica usando el método de la glucosa

oxidasa (Sigma Chemical, San Luis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia significativa entre grupos (comparando grupos tratados con fármaco y tratados con vehículo) usando la prueba de la t de Student independiente.

B. Resultados

5 Como se ilustra en la tabla 2, se evaluaron compuestos en 5 experimentos diferentes. Una dosis única de ácido (-) halofénico redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 6 horas. El análogo 14 redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 6, 30 y 54 horas. El análogo 33 redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 6 y a las 54 horas. El análogo 29 y el 38 redujeron significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 6, 30 y 54 horas. El análogo 35 y el 36 redujeron significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 30 y a las 54 horas. El análogo 37 redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 54 horas. Una dosis única de los análogos (-) 29, 36, 37 y 38 redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa a las 6 horas. Los tratamientos con compuesto no afectaron a la ingesta de comida y al peso corporal de los animales.



Fórmula II

20 Tabla 1: Análogos (±) y (-) de halofenato. Compuestos descritos con referencia a la fórmula II.

| Comp. n.º | 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 N(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 de disminución de glucosa de análogos de (±) halofenato y (-) halofenato.

| | Predosis | 6 horas | | 30 horas | | 54 horas | |
|----------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
| | Glucosa (mg/dl) | Glucosa (mg/dl) | VALOR de P frente a veh. | Glucosa (mg/dl) | VALOR de P frente a veh. | Glucosa (mg/dl) | VALOR de P frente a veh. |
| Vehículo | 313±18 | 303±19,8 | | ND | | ND | |
| ácido (-) halofénico | 312,9±17,7 | 163,8±11,8 | 0,0011 | ND | | ND | |
| | | | | | | | |
| 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 |
| | | | | | | | |
| Vehículo | 373,0±13,6 | 405,8±33,7 | | ND | | ND | |
| (-) Análogo 36 | 373,2±15,5 | 281,1±18,2 | 0,0019 | ND | | ND | |
| (-) Análogo 37 | 373,4±16,1 | 271,7±22,5 | 0,0018 | ND | | ND | |
| (-) Análogo 38 | 373,4±16,1 | 251,2±23,6 | 0,0007 | ND | | ND | |
| (-) Análogo 29 | 372,2±17,1 | 333,5±16,1 | 0,0353 | ND | | ND | |

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

A. Materiales y métodos

5

Se adquirieron ratas ZDF macho de 8-9 semanas de edad de Genetic Models, Inc. (Indianapolis, IN). Los animales se alojaron (3-5 ratas/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C de temperatura y 50 ± 20 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación de pienso para roedores de Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal. Se usaron ratas que tenían concentraciones plasmáticas de glucosa con un ayuno de 4 horas de entre 200 y 500 mg/dl. Cada grupo de tratamiento consistió en 8-10 ratas que se distribuyeron de modo que las concentraciones medias de glucosa eran equivalentes en cada grupo al inicio del estudio. A las ratas se les dosificó por vía oral mediante sonda una vez al día durante 3 días, bien vehículo, (-) halofenato o (+) halofenato a 50 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 mediante la sonda fue de 5 ml/kg. Se tomaron muestras de sangre a las 5 horas después de la dosis en el día 2 y 3. Las concentraciones plasmáticas de glucosa se determinaron de forma colorimétrica usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, San Luis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia significativa entre grupos (comparando grupos tratados con fármaco y tratados con vehículo) usando la prueba de la t de Student independiente.

20

B. Resultados

La administración oral de (-) halofenato a 50 mg/kg redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de glucosa, mientras que el (+) halofenato a las mismas concentraciones de dosificación no consiguió reducir las concentraciones plasmáticas de glucosa en comparación con los animales tratados con vehículo (figura 12).

25

Ejemplo 14

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

30

A. Materiales y métodos

Se adquirieron ratas SD macho de 225-250 g de Charles River. Los animales se alojaron (3-5 ratas/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C de temperatura y 50 ± 20 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación de pienso para roedores de Purina y agua a voluntad. Se colocó un catéter en la arteria carótida izquierda bajo pentobarbital sódico (50 mg/kg i.p.) y se dejó que los animales se recuperaran durante 2 días antes del tratamiento. Se administraron dosis únicas mediante sonda oral de (±) halofenato o (-) halofenato a 50 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 mediante la sonda fue de 5 ml/kg. Se recogieron muestras de sangre 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la dosis. Se analizaron las muestras de plasma para evaluar cada ácido enantiomérico (ácido (-) halofénico y ácido (+) halofénico) mediante un ensayo de HPLC quiral específico, dado que los ésteres son profármacos, que están diseñados para convertirse en sus correspondientes ácidos enantioméricos *in vivo*.

40

B. Resultados

45

Después de la administración oral de (\pm) halofenato, se detectaron tanto ácido (-) halofénico como ácido (+) halofénico en las muestras de plasma. Como se muestra en la tabla 3, resultó que los dos ácidos enantioméricos tenían perfiles de eliminación diferentes. La eliminación del ácido (-) halofénico fue mucho más lenta que la del ácido (+) halofénico. Como consecuencia, el ABC del ácido (-) halofénico fue significativamente mayor que el ABC para el 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.

Tras la administración oral de (-) halofenato, el perfil de eliminación del ácido (-) halofénico fue básicamente idéntico al de la administración de (\pm) halofenato, ya que la semivida terminal es la misma (tabla 2). La $C_{\text{máx}}$ y el ABC del ácido (-) halofénico fueron proporcionalmente mayores simplemente debido a la mayor cantidad de (-) halofenato administrado (tabla 3). También se detectó ácido (+) halofénico en el plasma, pero la concentración fue mucho más baja que la de ácido (-) halofénico. Se especula con que el ácido (+) halofénico se formó *in vivo*, dado que la semivida terminal ($T_{1/2}$) de ambos ácidos fue similar.

Estos resultados sugieren que es más deseable el uso de (-) halofenato, ya que el ABC del ácido (-) halofénico fue significativamente mayor que el ABC para el ácido (+) halofénico.

Tabla 3: Análisis farmacocinético de (-) halofenato (- enantiómero) y (+) halofenato (+ enantiómero).

| Fármaco administrado | (-) halofenato (n = 3) | | (\pm) halofenato (n = 1) | |
|--|------------------------|------------------|------------------------------|----------|
| | - | + | - | + |
| Enantiómero | - | + | - | + |
| Dosis administrada* | 50 mg/kg | 0 (metabolito) | 25 mg/kg | 25 mg/kg |
| $C_{\text{máx}}$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 114,6 \pm 29,7 | 2,4 \pm 0,5 | 65,2 | 30,5 |
| $T_{\text{máx}}$ (horas) | 8-12 | 6-12 | 12 | 6 |
| ABC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$) | 7159 \pm 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 (\pm) halofenato es el 50 % de la dosis total de la mezcla racémica.

Tabla 4: Concentraciones plasmáticas de ácido (-) halofénico y ácido (+) halofénico tras una única dosis de (-) halofenato.

| Tiempo (hora) | Compuesto analizado ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | | | | | |
|---------------|---|--------|---------|----------------------|--------|---------|
| | ácido (-) halofénico | | | ácido (+) halofénico | | |
| | Rata 8 | Rata 9 | Rata 11 | Rata 8 | Rata 9 | Rata 11 |
| 0 | DLC | DLC | DLC | DLC | DLC | DLC |
| 1 | 81,2 | 23,7 | 61,0 | 1,12 | DLC | DLC |
| 2 | 100,1 | 30,4 | 87,8 | 1,27 | DLC | 1,09 |
| 4 | 122,3 | 36,9 | 94,5 | 1,67 | DLC | 1,95 |
| 6 | 128,3 | 56,5 | 116,3 | 2,96 | DLC | 1,73 |
| 8 | 128,2 | 79,0 | 127,8 | 2,58 | DLC | 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 | DLC | DLC |
| 96 | 31,1 | N/D | 24,6 | DLC | N/D | DLC |
| 120 | 20,3 | N/D | N/D | DLC | N/D | N/D |

*DLC = por debajo del límite cuantificable < 1,00 $\mu\text{g}/\text{ml}$

N/D = muestra no disponible

Ejemplo 15

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

A. Materiales y métodos

Se adquirieron ratones C57BL/6J db/db macho de 4 semanas de edad de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). Los animales se alojaron (5 ratones/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C de temperatura y 50 ± 20 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación de pienso para roedores de Purina (n.º 8640) y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de la vena de la cola de cada animal para evaluar las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina y triglicéridos. Los ratones se distribuyeron de modo que las concentraciones medias de glucosa y los pesos corporales eran equivalente en cada grupo al inicio del estudio. Al grupo de control (20 ratones) se le dio pienso en polvo mezclado con sacarosa al 5 % y al grupo de tratamiento (20 ratones) se le dio pienso en polvo mezclado con sacarosa al 5 % y (-) halofenato. La cantidad de (-) halofenato en el pienso se ajustó de forma continua de acuerdo con el peso corporal y la ingesta de comida del animal para cumplir con la dosificación objetivo de 150 mg/kg/día. Se tomaron muestras de sangre a las 8-10 AM una vez a la semana durante 9 semanas en condiciones de no ayuno. La ingesta de comida y el peso corporal se midieron cada 1-3 días. Las concentraciones plasmáticas de glucosa y triglicéridos se determinaron de forma colorimétrica usando kits de Sigma Chemical Co (n.º 315 y n.º 339, San Luis, MO, EE.UU.). Las concentraciones plasmáticas de insulina se midieron usando un kit de ensayo de RIA de Linco Research (San Carlos, MO). Se evaluó la diferencia significativa entre grupos (comparando grupos tratados con fármaco y tratados con vehículo) usando la prueba de la t de Student independiente.

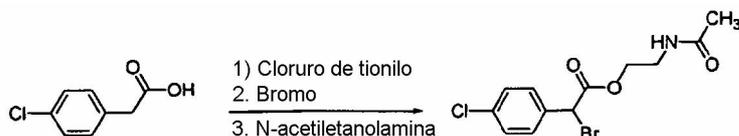
B. Resultados

Los ratones C57BL/6J db/db a las 4 semanas de edad están en un estado prediabético. Sus concentraciones plasmáticas de glucosa son normales, pero las concentraciones plasmáticas de insulina son significativamente elevadas. Como se ilustra en la figura 13, las concentraciones plasmáticas de glucosa en ambos grupos eran normales al inicio del experimento. Siguiendo el curso natural del desarrollo de la diabetes, las concentraciones plasmáticas de glucosa en el grupo de control aumentaron progresivamente a medida que envejecieron los animales, mientras que el aumento de las concentraciones plasmáticas de glucosa en el grupo tratado con (-) halofenato se evitó o se retrasó significativamente. Como se representa en la figura 15, aproximadamente el 30 % de los ratones no desarrollan diabetes en el grupo tratado con (-) halofenato cuando la diabetes se define como concentraciones plasmáticas de glucosa >250 mg/dl. Por otro lado, ninguno de los ratones del grupo de control estaba libre de diabetes a las edad de 10 semanas. De manera coherente con lo descubierto sobre la glucosa plasmática, la insulina plasmática en el grupo de control disminuyó progresivamente, lo que indica el deterioro de la capacidad del páncreas para segregar insulina. El tratamiento de (-) halofenato mantuvo la concentración plasmática de insulina, lo que indica que se evita el deterioro de la función pancreática (figura 14).

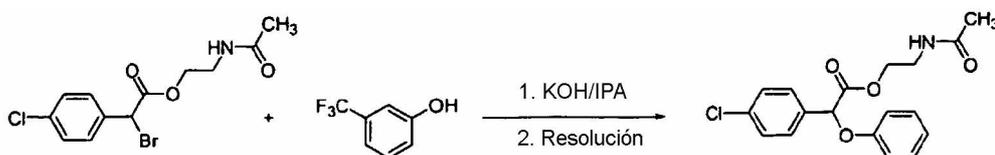
La figura 16 muestra la progresión de las concentraciones plasmáticas de triglicéridos frente a la edad en ratones C57BL/6J db/db. La administración de (-) halofenato alivió el aumento de la concentración plasmática de triglicéridos a lo largo del curso del experimento.

Ejemplo 16

Este ejemplo describe la preparación de (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato de 2-acetamidoetilo ((-) halofenato).



Se combinó ácido 4-clorofenilacético con 1,2-dicloroetano y la solución resultante se calentó hasta 45 °C. Se añadió cloruro de tionilo a la mezcla de reacción, que se calentó a 60 °C durante 18 horas. Se dejó enfriar la reacción hasta temperatura ambiente y después se le añadió lentamente a una solución de N-acetiletanolamina en diclorometano. Tras agitar durante 30 min, la reacción se desactivó con carbonato potásico y tiosulfato de sodio acuosos. Se lavó la fase orgánica con agua, se secó sobre sulfato de magnesio y se filtró. La eliminación del disolvente por evaporación rotatoria proporcionó 2-bromo-2-(4-clorofenil)acetato de N-acetilaminoetilo como un aceite.



Se añadió 3-hidroxibenzotrifluoruro a una solución de hidróxido de potasio en isopropanol. Se añadió 2-bromo-2-(4-

clorofenil)acetato de N-acetilaminoetilo en isopropanol a la solución de isopropanol/fenóxido y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se eliminó el isopropanol por destilación a vacío y la nieve húmeda resultante se disolvió en acetato de etilo y se lavó dos veces con agua y una vez con salmuera. Después de secar sobre sulfato de magnesio y filtrar, se eliminó el disolvente para dar el producto en bruto como un aceite. El producto en bruto se disolvió en tolueno/hexanos (1:1 v/v) caliente y se enfrió hasta entre 0 y 10 °C para cristalizar el producto. La torta de filtrado se lavó con hexanos/tolueno (1:1 v/v) y después se secó a vacío a 50 °C. El sólido aislado se disolvió en isopropanol en hexanos 1:6 (v/v) caliente. Después de enfriar, se formó el 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato de 2-acetamidoeetilo racémico puro como un sólido cristalino. El sólido se recogió por filtración, la torta de filtrado se lavó con isopropanol en hexanos 1:6 (v/v) y se secó a vacío a 50 °C.

El compuesto racémico se disolvió en una solución del 20 % de isopropanol (IPA) y el 80 % de hexano al 2,5 % (p/p). La solución resultante se pasó por una fase estacionaria quiral (CSP) R,R de Whelk-O de forma continua hasta que pudo retirarse extracto con un ee de >98 %. Se evaporó el disolvente del extracto bajo presión reducida para proporcionar (-) 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato de 2-acetamidoetilo. (El lecho móvil simulado lo realizó Universal Pharm Technologies LLC de 70 Flagship Drive, North Andover, MA 01845.)

Ejemplo 17

Este ejemplo se refiere a la disminución de las concentraciones plasmáticas de ácido úrico por medio de la administración de (-) halofenato.

A. Materiales y métodos

Se adquirieron ratas SD macho con pesos de 275-300 g de Charles River. Los animales se alojaron (3-5 ratas/jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C de temperatura y 50 ± 20 % de humedad relativa y se mantuvieron con una alimentación en polvo de pienso para roedores de Purina (n.º 8640) y agua a voluntad. Para establecer un estado hiperuricémico, se dio a los animales una alimentación que contenía un 2,5 % (p/p) de ácido oxónico (Sigma Chemical Co, San Luis, MO, EE.UU.) a lo largo del experimento. El ácido oxónico eleva el ácido úrico plasmático mediante la inhibición de la uricasa. Se analizaron las concentraciones plasmáticas de ácido úrico de las ratas 3 días después de comenzar con la alimentación y se excluyeron aquellas que presentaban concentraciones plasmáticas de ácido úrico extremas. Las ratas se asignaron a uno de tres grupos y las concentraciones medias de ácido úrico eran equivalentes en cada grupo. A las ratas se les dosificó por vía oral mediante sonda una vez al día durante 3 días, bien vehículo, (-) halofenato o (+) halofenato a 50 mg/kg. El 4º día, las ratas correspondientes recibieron (-) halofenato o (+) halofenato a 100 mg/kg y todas las ratas recibieron una inyección i.p. de ácido oxónico (250 mg/kg) 4 horas después de la administración por sonda oral. 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 en una formulación líquida que contenía metilcelulosa al 0,9 % (p/v). Los volúmenes de la sonda y la inyección fueron de 5 ml/kg. Se tomaron muestras de sangre 6 horas después de la administración oral por sonda en el día 4. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de ácido úrico de forma colorimétrica usando el reactivo de ácido úrico Infinity (Sigma Chemical Co, San Luis, MO, EE.UU.). Se evaluó la diferencia significativa entre grupos (comparando grupos tratados con fármaco y tratados con vehículo) usando la prueba de la t de Student independiente.

B. Resultados

Como se muestra en la figura 17, la administración oral de (-) halofenato redujo significativamente las concentraciones plasmáticas de ácido úrico. El (+) halofenato también redujo las concentraciones plasmáticas de ácido úrico, pero no fue estadísticamente significativo.

Ejemplo 18

Este ejemplo se refiere a la inhibición de isoformas del citocromo P450 por los compuestos de la presente divulgación.

A. Materiales y métodos

Se usaron los siguientes sustratos de sonda para estudiar el potencial inhibidor del artículo de prueba sobre las isoformas 1A2, 2A6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 y 3A4 del citocromo P450: fenacetina (CYP1A2) 100 µM, cumarina (CY2A6) 1 µM, tolbutamida (CYP2C9) 150 µM, S-mefenitoína (CYP2C19) 50 µM, dextrometorfano (CYP2D6) 16 µM, clorzoxazona (CYP2E1) 50 µM y testosterona (CYP3A4) 80 µM. Se determinó la actividad de cada isoforma en microsomas hepáticos humanos en presencia y ausencia del artículo de prueba.

A menos que se indique lo contrario, todas las incubaciones se realizaron a 37 °C. El tamaño de la muestra fue de N = 3 para todas las condiciones de prueba y control positivo y de N = 6 para todas las condiciones de control de vehículo. El ácido (-) halofénico (PM = 330) se preparó a temperatura ambiente como disoluciones madre 1000X en

metanol, después se diluyó con tampón Tris para lograr concentraciones finales de 0,33, 1,0, 3,3, 10 y 33,3 μM , conteniendo cada una metanol al 0,1 %. Se incluyó para todos los grupos de experimentación un control de vehículo (CV) de microsomas y sustrato en tampón Tris que contenía metanol al 0,1 % sin el artículo de prueba. Se prepararon mezclas de control positivo (CP) usando los siguientes inhibidores de CYP450 conocidos: furafillina (CYP1A2) 5 μM , tranilcipromina (CYP2A6) 250 μM , sulfafenazol (CYP2C9) 50 μM , omeprazol (CYP2C19) 10 μM , quinidina (CYP2D6) 1 μM , 4-metilpirazol (CYP2E1) 100 μM y cetoconazol (CYP3A4) 5 μM . Se incluyó un control de interferencia cromatográfico (CIC) para estudiar la posibilidad de interferencia cromatográfica por el artículo de prueba y sus metabolitos. Se incubó el artículo de prueba (a 33,3 $\mu\text{g/ml}$) con proteína microsómica IX, NRS IX y 10 μl de un compuesto orgánico apropiado durante un periodo de tiempo apropiado como se describe a continuación.

Es este estudio se usaron lotes congelados de microsomas hepáticos de machos y hembras adultos combinados preparados por centrifugación diferencial de homogeneizados de hígado (véase, por ejemplo, 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). Se prepararon mezclas de incubación en tampón Tris para contener proteína microsómica (1 mg/ml), cada concentración de los sustratos de sonda (como soluciones madre 100X) y el artículo de prueba (a cada concentración) o el CP según sea apropiado para cada isoforma. Después de una preincubación de 5 minutos a 37 °C, se añadió un sistema de regeneración de NADPH (NRS) para iniciar las reacciones y se incubaron las muestras 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 (CYP2C19), 15 minutos para el dextrometorfano (CYP2D6), 20 minutos para la cloroxazona (CYP2E1) y 10 minutos para la testosterona (CYP3A4). Las reacciones de incubación se finalizaron en el momento adecuado con la adición de un volumen equivalente de metanol, excepto para las incubaciones con S-mefenitoína, que se finalizaron con la adición de 100 μl de ácido perclórico. Se evaluaron todos los sustratos cerca de sus concentraciones de K_m correspondientes, como se indica anteriormente.

Después de cada incubación, se determinaron las actividades de las isoformas de P450 midiendo las velocidades del metabolismo de los sustratos de sonda correspondientes. Los metabolitos monitorizados para cada sustrato de sonda fueron los siguientes: acetaminofeno para CYP1A2; 7-hidroxicumarina para CYP2A6; 4-hidroxitolbutamida para CYP2C9; 4-hidroxi-mefenitoína para CYP2C19; dextro-rfano para CYP2D6; 6-hidroxicloroxazona para CYP2E1; y 6 β -hidroxitestosterona para CYP3A4. Las actividades se analizaron usando HPLC (In Vitro Technologies, Inc., Baltimore, MD).

La inhibición se calculó usando la ecuación siguiente:

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

Los datos de porcentaje de inhibición para el artículo de prueba se presentaron en formato tabular. Se calcularon las estadísticas descriptivas (media y desviación estándar) de cada concentración del artículo de prueba y después se presentaron para mostrar la potencia inhibidora. También se calcularon los valores de CI_{50} para el artículo de prueba usando una ecuación de ajuste de la curva de 4 parámetros en Softmax 2.6.1.

Las medidas de tiempo, temperatura y concentración de este ejemplo son aproximadas.

B. Resultados

En las tablas 5-8 se presentan los resultados de 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-hidroxi-mefenitoína (CYP2C19) a las concentraciones de dosis de 10 y 33 μM . No se observó la inhibición de otras isoformas del CYP450. Cabe destacar que la CI_{50} para CYP2C9 en este experimento fue aproximadamente tres veces la comunicada en el ejemplo 7 (11 μM con comparación con 3,6 μM). Con toda probabilidad, este resultado se debe, al menos en parte, al uso de un ácido (-) halofénico de pureza inferior (ee inferior) en el ejemplo 7.

Tabla 5: Actividades microsómicas hepáticas de fenacetina (CYP1A2) y cumarina (CYP2A6) en microsomas humanos masculinos y femeninos incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 10 y 33,3 μM .

| Control / Artículo de prueba | Conc. (μM) | Fenacetina | | Cumarina | |
|------------------------------|-------------------------|---|-----------------|---|-----------------|
| | | Producción de AC (pmol/mg proteína/min) | % de inhibición | Producción de 7-HC (pmol/mg 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±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 | | |

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

- 5 Tabla 6: Actividades microsómicas hepáticas de tolbutamida (CYP2C9) y S-mefenitoína (CYP2C19) en microsomas humanos masculinos y femeninos incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 10 y 33,3 μM.

| Control / Artículo de prueba | Conc. (μM) | Tolbutamida | | S-Mefenitoína | |
|------------------------------|------------------|--|-----------------|--|-----------------|
| | | Producción de 4-OH TB (pmol/mg proteína/min) | % de inhibición | Producción de 4-OH ME (pmol/mg 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 | DLC | ~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 | |

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 (metanol al 0,1 %); NA, no aplicable; OMP, omeprazol; SFZ, sulfafenazol; DLC, por debajo del límite cuantificable.

10

Tabla 7: Actividades microsómicas hepáticas de dextrometorfano (CYP2D6) y clorzoxazona (CYP2E1) en microsomas humanos masculinos y femeninos incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 10 y 33,3 μM.

| Control / Artículo de prueba | Conc. (μM) | Dextrometorfano | | Clorzoxazona | |
|------------------------------|------------|--|-----------------|---|-----------------|
| | | Producción de DEX (pmol/mg proteína/min) | % de inhibición | Producción de 6-OH CZX (pmol/mg 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 |
| FUR | 100 | NA | NA | DLC | ~100 |
| TRAN | 1 | DLC | ~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 |
|------------------|----|----|

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

5 Tabla 8: Actividades microsómicas hepáticas de testosterona (CYP3A4) en microsomas humanos masculinos y femeninos incubados con ácido (-) halofénico a dosis de 0,33, 1,0, 3,3, 0,10 y 33,3 μ M.

| Control / Artículo de prueba | Conc. (μ M) | Testosterona | |
|------------------------------------|------------------|--|-----------------|
| | | Producción de 6 β -OHT (pmol/mg proteína/min) | % de inhibición |
| CIC | 33,3 | 0,00 \pm 0,00 | NA |
| CV | 0,1% | 1843 \pm 9 | 0 |
| CTZ | 5 | 32,4 \pm 0,2 | 98,2 |
| ácido (-) halofénico | 0,33 | 1816 \pm 12 | 1,5 |
| | 1,0 | 1851 \pm 14 | 0 |
| | 3,3 | 1810 \pm 13 | 1,8 |
| | 10 | 1819 \pm 4 | 1,3 |
| | 33,3 | 1816 \pm 6 | 1,5 |
| | Cl ₅₀ | NA | |

10 Los valores son la media \pm la desviación estándar N = 3 muestras (CV: N = 6). Abreviaturas: Conc, concentración; 6 β -OHT, 6 β -hidroxitestosterona; CIC, control de interferencia cromatográfica; CV, control de vehículo (metanol al 0,1 %); NA, no aplicable; CTZ, cetoconazol; DLC, por debajo del límite cuantificable.

Ejemplo 19

15 Este ejemplo ilustra la preparación de diversos ésteres profármaco del enantiómero (-) de CPTA. Se proporcionan métodos de acoplamiento representativos (métodos 1-5).

Método 1- Preparación de la sal de cesio de (-)-CPTA mediante la adición subestequiométrica de base y reacción con bromuro de bencilo. Preparación de (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)bencenoacetato de bencilo.

20 A 100,2 mg (0,303 mmol) de (-)-CPTA se le añadieron 0,82 ml de MeOH y 0,2 ml de H₂O. La solución se enfrió (0-5 °C) y se añadieron 0,148 mmol de Cs₂CO₃ (0,296 mmol de base disponible) provenientes de una solución madre al 20 % (p/p) enfriada. El pH resultante fue de entre 5,5 y 6. Se retiró la refrigeración y se agitó la mezcla durante 15 min. Se extrajo el MeOH/H₂O y se añadieron 2 ml de benceno seco y se extrajo completamente a 45 °C. Se añadieron otros 2 ml de benceno y se evaporó de nuevo a 45 °C. Se añadieron benceno anhidro (0,5 ml) y DMF anhidro (0,5 ml) a la sal de cesio de (-)-CPTA, se enfrió la solución hasta 0 °C y se añadió gota a gota bromuro de bencilo (disuelto en 200 μ l de benceno/DMF 50/50 anhidro y enfriado). Después de 5-10 min se retiró la refrigeración con hielo y se dejó atemperar el matraz hasta temperatura ambiente. Después de 6 h, se completó la reacción (CL/EM). Se añadió cloroformo metílico (8 ml) y se lavó dos veces con NaHCO₃ 0,2 N enfriado en hielo. Después, se lavó la fase orgánica con HCl 0,1 N frío, se secó (Na₂SO₄) y se extrajo para proporcionar (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometil-fenoxi)bencenoacetato de bencilo como un aceite viscoso transparente (108 mg, 85 % de rendimiento). Análisis quiral (columna de proteína albúmina de fase inversa Ultron ES-OVM): ee del 98 %. Pureza CL/EM: 100%.

Método 2: Acoplamiento mediado por HATU. Preparación de (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)bencenoacetato de 2-etoxicarbonil-aminoetilo.

35 A una solución enfriada (0-5 °C) de ácido (-)-4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)bencenoacético (0,100 g, 0,302 mmol) y N-(2-hidroxietil)carbamato de etilo (44 mg, 0,333 mmol) en cloruro de metileno se le añadió piridina (36 mg, 0,454 mmol) proveniente de una solución madre al 25 % en cloruro de metileno. Se añadió HATU (115 mg, 0,302 mmol) en una parte y, después de 20 minutos, se dejó que la suspensión atemperara hasta temperatura ambiente. La reacción se monitorizó por CL/EM y se completó después de 3,5 h. La mezcla de producto se repartió entre cloruro de metileno (5 ml) y NaHCO₃ 0,2 M (5 ml). La fase acuosa se extrajo un total de tres veces con cloruro de metileno. Los extractos orgánicos se combinaron, se lavaron con HCl 2 M (3x5ml), se secaron (Na₂SO₄) y se evaporaron para proporcionar (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)bencenoacetato de 2-etoxicarbonilaminoetilo como un aceite viscoso transparente (104 mg, 77 % de rendimiento). Análisis quiral (columna de proteína albúmina de fase inversa Ultron ES-OVM): ee del 97 %, pureza CL/EM: 97%.

Método 3: formación de éster catalizada por ácido p-toluenosulfónico. Preparación de (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)benzenoacetato de 2-metoxietilo.

- 5 A 100 mg (0,302 mmol) de (-)-CPTA se les añadieron 150 mg (1,97 mmol) de metoxietanol, 4 ml de benceno y 16,1 mg de ácido p-toluenosulfónico. La solución se sometió a reflujo durante 3 h usando una trampa de Dean-Stark para la eliminación del azeótropo de benceno y agua. La reacción se enfrió, se evaporó bajo presión reducida y se repartió entre cloruro de metileno (5 ml) y Na₂CO₃ 0,2 M (5 ml). La fase acuosa se extrajo un total de tres veces con cloruro de metileno. Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se evaporaron para proporcionar (-)
- 10 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)benzenoacetato de 2-metoxietilo como un aceite viscoso transparente (96 mg, 82 % de rendimiento). Análisis quiral (columna de proteína albúmina de fase inversa Ultron ES-OVM): ee del 98 %, pureza CL/EM: 95%.

- 15 *Método 4: Conversión de (-)-CPTA en ácido clorhídrico a través de cloruro de oxalilo/DMF y reacción con alcoholes. Preparación de (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)benzenoacetato de propargilo.*

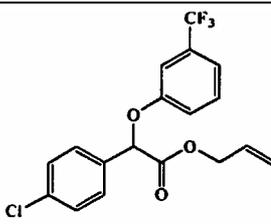
- Se añadió (-)-CPTA (100 mg, 0,302 mmol) a una suspensión blanca preparada mediante la adición gota a gota de cloruro de oxalilo (43 mg, 0,336 mmol) a DMF (33 mg, 0,453 mmol) en 1 ml de acetonitrilo/cloruro de metileno 60/40. La reacción se agitó durante 30 min a 0 °C para completar la formación de cloruro de ácido. Se añadió gota a gota una solución de alcohol propargílico (18,5 mg, 0,330 mmol) y piridina (52,4 mg, 0,663 mmol) en 200 µl de cloruro de metileno seco a la solución enfriada del cloruro de ácido. La temperatura se mantuvo a 0 °C durante la primera hora y después se dejó atemperar hasta temperatura ambiente. Después de 3 h se completó la reacción (monitorizado por CL/EM). La mezcla de reacción se repartió entre cloroformo metílico y Na₂CO₃ 0,2 M. La fase orgánica se lavó tres veces con base acuosa. Después, la fase orgánica se lavó una vez con HCl 1 M, se secó (MgSO₄) y se extrajo para proporcionar (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)benzenoacetato de propargilo como un aceite viscoso transparente (96 mg, 86 % de rendimiento). Análisis quiral en una Ultron ES-OVM de Shinwa Chemical (columna de proteína albúmina de fase inversa): ee del 98 %, pureza CL/EM: 100%.
- 20
- 25

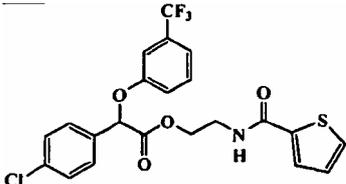
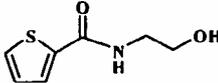
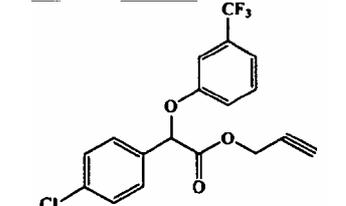
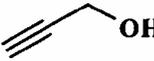
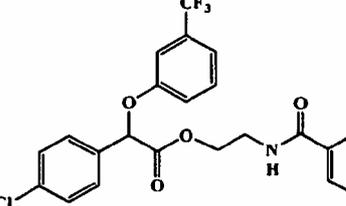
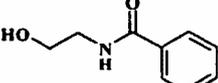
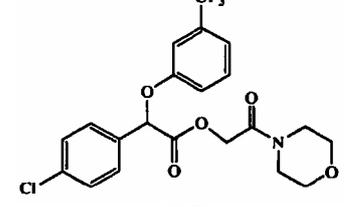
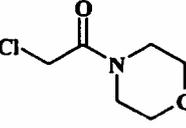
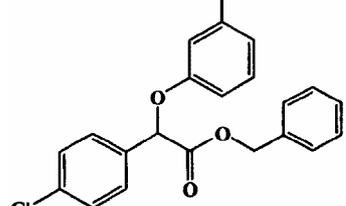
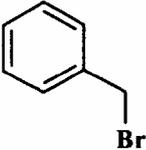
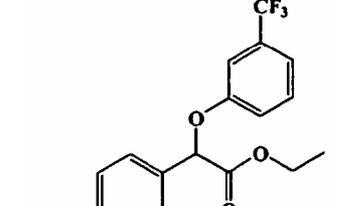
- 30 *Método 5: Generación in situ de la sal de plata (I) de (-)-CPTA mediante la adición subestequiométrica de Ag₂CO₃ y reacción con ciclohexilcarbonato de 1-cloroetilo. Preparación de (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)benzenoacetato de 1-(ciclohexiloxycarbonilo) etilo.*

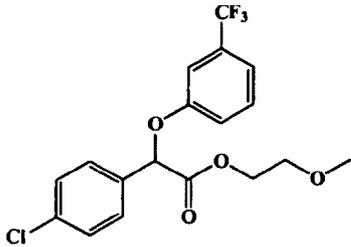
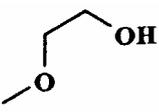
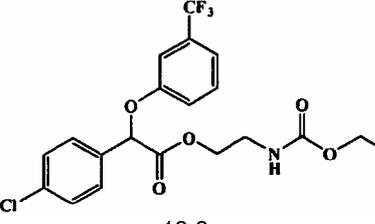
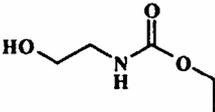
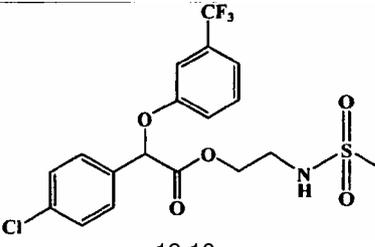
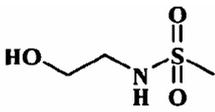
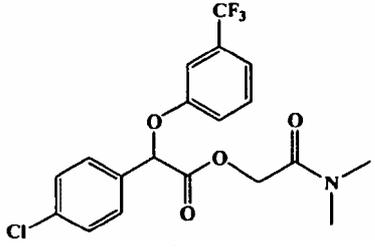
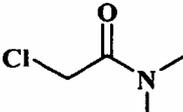
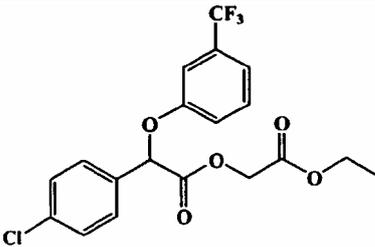
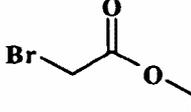
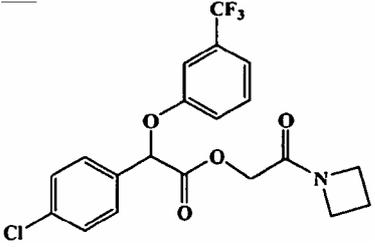
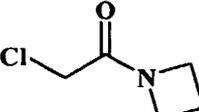
- A una solución enfriada (0-5 °C) de ácido (-)-4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)benzenoacético (0,200 g, 0,605 mmol) en 2 ml de acetonitrilo se le añadió ciclohexil carbonato de 1-cloroetilo (0,105 g, 0,544 mmol). Después, se añadió Ag₂CO₃ (0,067 g, 0,242 mmol) en una parte. Se retiró el baño de hielo y, después de 6 horas a temperatura ambiente, la reacción se completó. La mezcla de reacción se repartió entre cloruro de metileno y NaHCO₃ 0,2 M. La fase orgánica se lavó un total de tres veces con solución de bicarbonato y después una vez con HCl 0,01 M, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó para proporcionar 0,126 g (41 %) de (-) 4-cloro-alfa-(3-trifluorometilfenoxi)benzenoacetato de 1-(ciclohexiloxycarbonilo)etilo. Análisis quiral (columna de proteína albúmina de fase inversa Ultron ES-OVM): ee del 98 %, pureza CL/EM: 100%.
- 35
- 40

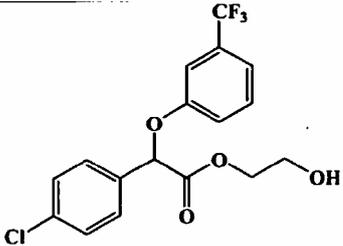
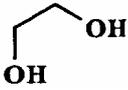
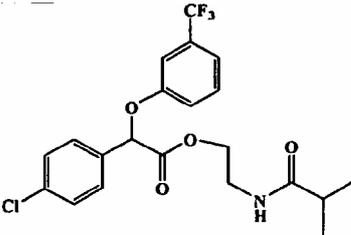
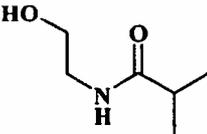
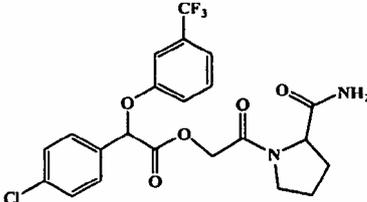
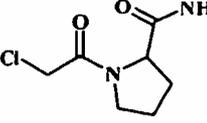
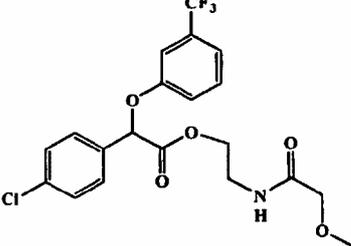
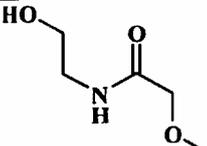
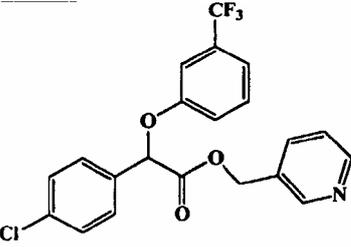
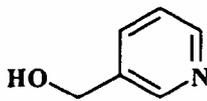
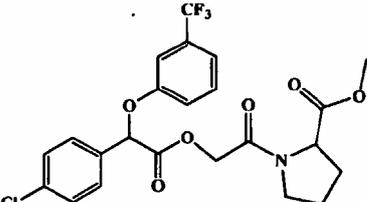
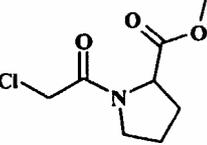
La tabla 9 proporciona estructuras de compuestos profármaco adicionales, junto con datos de caracterización y referencia a los métodos empleados para la preparación y la procedencia de los materiales de partida.

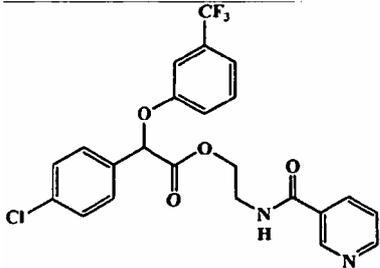
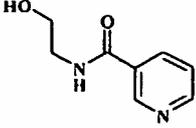
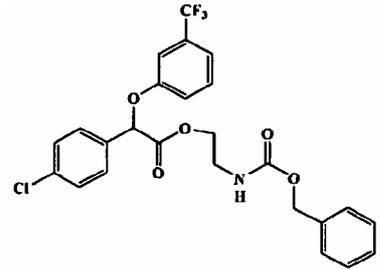
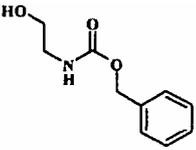
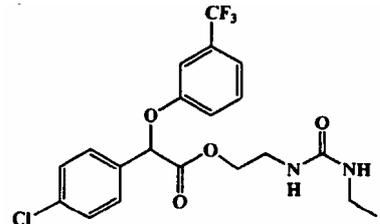
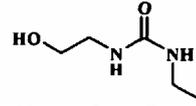
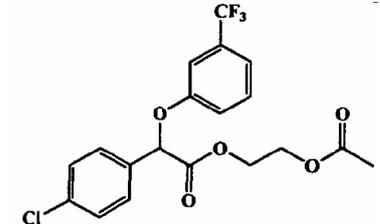
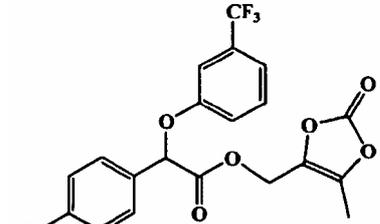
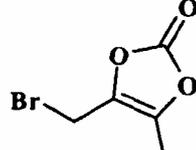
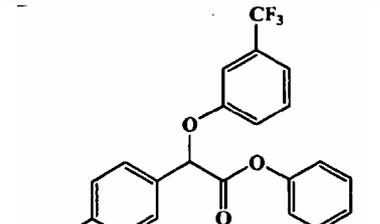
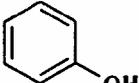
- 45 Tabla 9 Compuestos ilustrativos, procedencia de los reactivos y métodos de acoplamiento. Sólo los compuestos 19.1 y 19.3 se ajustan a la fórmula (II) de acuerdo con la reivindicación 1.

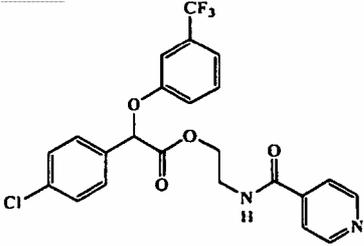
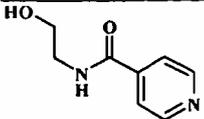
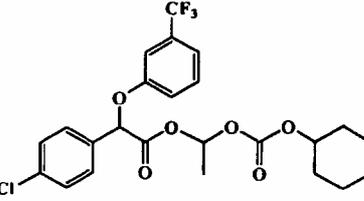
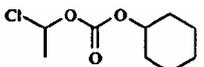
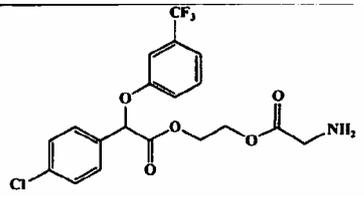
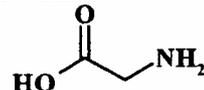
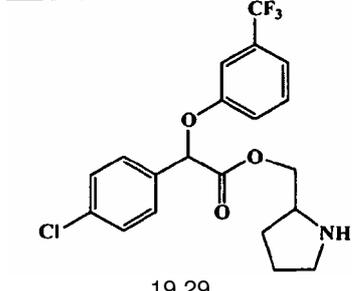
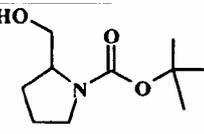
| Compuesto y número | Reactivo y referencia de procedencia: | Elucidación estructural | Método de acoplamiento (véase más adelante) |
|---|--|--|---|
|  <p>19.1</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>[α]²⁴_D - 55,03 (c 5,23, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,8 (1H, m), 5,6 (1H, s), 5,2 (2H, dd), 4,6 (2H, m). CLEM, 369, 99 %. 98 % ee</p> | Método 1 |

| | | | |
|---|--|---|-----------------|
|  <p>19.2</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 5.506.224</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 27,16 (c 6,99, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (11H, m), 5,9 (1H, m), 4,3 (2H, m), 3,6 (2H, m). CLEM, 482, 99 %. 98 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.3</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 44,46 (c 5,90, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (13H, m), 5,6 (1H, s), 4,7 (2H, dd), 2,4 (1H, s). CLEM, 368, 99 %. 98 % ee</p> | <p>Método 4</p> |
|  <p>19.4</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 35,40 (c 12,6, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (13H, m), 6,0 (1H, m), 5,6 (1H, s), 4,3 (2H, m), 3,6 (2H, m). CLEM, 477, 99 %. 97,4 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.5</p> |  <p>Maybridge</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 57,39 (c 10,3, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,1-7,5 (8H, m), 5,7 (1H, s), 4,9 (1H, d), 4,6 (1H, d), 3,6 (8H, m). CLEM, 457, 99 %. 97,4 % ee</p> | <p>Método 1</p> |
|  <p>19.6</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 35,38 (c 7,36, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (13H, m), 5,6 (1H, s), 5,1 (2H, dd). CLEM, 421, 99 %. 98 % ee</p> | <p>Método 1</p> |
|  <p>19.7</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 56,34 (c 5,32, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,2 (2H, m), 1,1 (3H, t). CLEM, 358, 98 %. 98 % ee</p> | <p>Método 3</p> |

| | | | |
|--|---|--|-----------------|
|  <p>19.8</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 54,13 (c 8,40, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,4 (1H, m), 4,2 (1H, m), 3,5 (2H, m), 3,3 (3H, s). CLEM, 445, 97 %. 97,7 % ee</p> | <p>Método 3</p> |
|  <p>19.9</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 5.506.224</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 43,30 (c 6,61, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,5 (1H, m), 4,2 (2H, m), 4,0 (2H, m), 3,3 (2H, m), 1,1 (3H, m). CLEM, 445, 97 %. 96,8 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.10</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 5.506.224</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 42,33 (c 7,30, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,3 (2H, m), 4,1 (1H, m), 3,3 (2H, m), 2,8 (3H, s). CLEM, 451, 97 %. 96,5 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.11</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 57,87 (c 2,57, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,9 (1H, d), 4,6 (1H, d), 2,9 (3H, s), 2,8 (3H, s). CLEM, 415, 98 %. 97,1 % ee</p> | <p>Método 1</p> |
|  <p>19.12</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 62,27 (c 5,35, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,2 (2H, m), 1,1 (3H, t). CLEM, 416, 99 %. 98 % ee</p> | <p>Método 1</p> |
|  <p>19.13</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 3.998.808</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 49,85 (c 11,3, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,7 (1H, s), 4,6 (2H, d), 4,4 (2H, d), 4,0 (4H, m), 2,3 (2H, m). CLEM, 427, 96 %. 96,1 % ee</p> | <p>Método 1</p> |

| | | | |
|--|--|--|-----------------|
|  <p>19.14</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}\text{D}$- 51,17 (c 6,76, CHCl_3) RMN ^1H (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 5,3 (1H, s), 4,3 (2H, m), 3,7 (2H, m). CLEM, 374, 98 %. 95,9 % ee</p> | <p>Método 3</p> |
|  <p>19.15</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 5.506.224</p> | <p>$[\alpha]^{24}\text{D}$- 40,97 (c 8,18, CHCl_3) RMN ^1H (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 5,3 (1H, m), 4,1 (2H, m), 3,4 (2H, m), 2,1 (1H, m), 1,0 (3H, d). CLEM, 443, 99 %. 97,1 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.16</p> |  <p>Synthesis (1991) 571</p> | <p>$[\alpha]^{24}\text{D}$- 111,2 (c 10,8, CHCl_3) RMN ^1H (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (8H, m), 6,7 (1H, m), 5,6 (1H, s), 5,3 (1H, m), 4,9 (1H, d), 4,4 (1H, m), 4,4 (1H, d), 3,4 (1H, m), 3,3 (1H, m), 2,4 (1H, m), 2,2 (1H, m), 2,0 (1H, m), 1,8 (1H, m). CLEM, 484, 99 %. 96 % ee</p> | <p>Método 1</p> |
|  <p>19.17</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 5.506.224.</p> | <p>$[\alpha]^{24}\text{D}$- 36,72 (c 8,90, CHCl_3) RMN ^1H (400MHz, CHCl_3): δ8,8-7,5 (8H, m), 6,5 (1H, m), 5,6 (1H, s), 4,3 (2H, m), 3,8 (2H, s), 3,5 (2H, m), 3,4 (3H, s). CLEM, 445, 99 %. 98 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.18</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}\text{D}$- 21,23 (c 13,2, CHCl_3) RMN ^1H (400MHz, CHCl_3): δ8,6 (1H, σ), 7,8 (1H, δ), 7,0-7,6 (10H, m), 5,6 (1H, s), 5,2 (2H, s). CLEM, 421, 99 %. 97 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.19</p> |  <p>J. Med, Chem (1997) 3594</p> | <p>$[\alpha]^{24}\text{D}$- 108,3 (c 9,36, CHCl_3) RMN ^1H (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,8 (1H, s), 5,0 (2H, d), 4,5 (1H, m), 4,5 (2H, d), 3,7 (3H, s), 3,4-3,7 (2H, m), 1,8-2,3 (4H, m). CLEM, 499, 99 %. 98,3 % ee</p> | <p>Método 1</p> |

| | | | |
|--|--|---|-----------------|
|  <p>19.20</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 5.506.224</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 32,05 (c 6,00, CHCl_3) $\text{RMN } ^1\text{H}$ (400MHz, CHCl_3): δ9,4 (1H, s a), 8,7 (1H, s a), 8,4 (1H, s a), 7,7 (1H, s a), 7,0-7,5 (8H, m), 5,8 (1H, s), 4,4 (2H, m), 3,7 (2H, m). CLEM, 479, 99 %. 97,6 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.21</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 28,19 (c 14,3, CHCl_3) $\text{RMN } ^1\text{H}$ (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (13H, m), 5,6 (1H, s), 5,1 (2H, s), 4,6 (1H, m), 4,2 (2H, m), 3,4 (2H, m). CLEM, 507, 99 %. 98 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.22</p> |  <p>Chem. Soc. Rev. (1975) 231</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 39,80 (c 5,90, CHCl_3) $\text{RMN } ^1\text{H}$ (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,2 (2H, m), 4,0 (1H, m), 3,4 (2H, m), 3,0 (2H, m), 1,0 (3H, t). CLEM, 444, 99 %. 98 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.23</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 44,75 (c 7,60, CHCl_3) $\text{RMN } ^1\text{H}$ (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,1-4,4 (4H, m), 1,9 (3H, s). CLEM, 416, 99 %. 98,36 % ee</p> | <p>Método 4</p> |
|  <p>19.24</p> |  <p>Patente de EE.UU. n.º 5.466.811</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 35,63 (c 5,30, CHCl_3) $\text{RMN } ^1\text{H}$ (400MHz, CHCl_3): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,9 (2H, dd), 2,1 (3H, s). CLEM, 442, 99 %. 98,3 % ee</p> | <p>Método 1</p> |
|  <p>19.25</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 38,42 (c 8,78, CHCl_3) $\text{RMN } ^1\text{H}$ (400MHz, CHCl_3): δ6,9-7,7 (13H, m), 5,8 (1H, s). CLEM, 406, 99 %. 99 % ee</p> | <p>Método 2</p> |

| | | | |
|--|--|--|-----------------|
|  <p>19.26</p> |  <p>Aldrich</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 28,50 (c 8,40, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ8,8 (2H, d), 7,5 (2H, d), 7,0-7,4 (8H, m), 6,3 (1H, s), 5,6 (1H, s), 4,4 (2H, s a), 3,8 (2H, s a). CLEM, 478, 99 %. 97 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.27</p> |  <p>Syn. (1986) 627</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 31,48 (c 5,00, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 6,8 (1H, m), 5,6 (1H, s), 4,5 (1H, m), 1,2-2,0 (13H, m). CLEM, 500, 99 %. 99 % ee</p> | <p>Método 5</p> |
|  <p>19.28</p> |  <p>Sigma</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 29,52 (c 2,04, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,2-4,5 (4H, m), 3,7 (2H, m). CLEM, 431, 99 %. 96,4 % ee</p> | <p>Método 2</p> |
|  <p>19.29</p> |  <p>Sigma</p> | <p>$[\alpha]^{24}_D$- 20,83 (c 5,42, CHCl₃) RMN ¹H (400MHz, CHCl₃): δ7,0-7,5 (8H, m), 5,6 (1H, s), 4,4 (1H, m), 3,2-4,0 (2H, m), 1,6-2,2 (4H, m). CLEM, 413, 98 %. 75 % ee</p> | <p>Método 2</p> |

Ejemplo 20

Este ejemplo ilustra la metodología y las condiciones para el análisis quiral de ésteres de (-)-CTPA profármaco.

5

Dado que el centro quiral de los ésteres profármaco es adyacente al carbonilo del ácido, se analizaron los ésteres para confirmar que el centro óptico no se había racemizado durante el acoplamiento. Tanto el MBX102 como el ácido de MBX102 se han resuelto en una columna quiral de fase normal, pero la confirmación de las retenciones relativas de los ésteres enantioméricos en una columna de este tipo requeriría estándares de ambos enantiómeros para todos los compuestos implicados. De forma alternativa, podrían hidrolizarse los ésteres a los ácidos conocidos y podría analizarse la proporción de los ácidos enantioméricos conocidos, pero en estas condiciones es probable cierto grado de racemización. Las columnas quirales de fase inversa ofrecen la posibilidad de conectarse con un sistema de CL-EM, de modo que los enantiómeros podrían identificarse positivamente sin estándares independientes. En condiciones de monitorización selectiva de iones (SIM) de iones negativos, cabría esperar una CL-EM de un orden de magnitud más sensible que la detección UV, así como que fuera mucho más específica. La aplicación de CL-EM de columna quiral ha demostrado ser un método excelente para caracterizar la pureza óptica de esta serie de compuestos. Se ha demostrado que el límite de cuantificación está por debajo del límite del 2,5 % establecido para el isómero óptico alternativo y el nivel de detección extremadamente bajo da más flexibilidad en la separación de la serie, así como establece las retenciones relativas de los pares enantioméricos en la mayoría de los casos sin necesidad de producir el material racemizado.

20

Los enantiómeros de los ésteres profármaco sintetizados se separaron bien usando uno de los sistemas de columnas y disolventes que se enumeran a continuación. La mayoría de los enantiómeros se separaron usando la columna ES-OVM de fase inversa con el espectrómetro de masas como detector. Dado que esto proporciona la confirmación añadida de la proporción de especie molecular e isótopo, esta fue la técnica preferida. Para pares enantioméricos que no se separaron en la columna de fase inversa, se usó un sistema de fase normal y se racemizó

25

parte de la muestra para establecer el tiempo de retención de los enantiómeros.

DESCRIPCIÓN DE LAS CONDICIONES ANALÍTICAS:

5 *Separación en fase inversa:*

Columna: Ultron ES-OVM 4,6 x 150 mm de Shinwa Chemicals con precolumna correspondiente (pieza n.º 712111630). Disponible de Mac Mod Analytical.

10 Disolventes: "A" Acetonitrilo, etanol o metanol. "B" Agua que contiene NH₄ OCOCH₃ (acetato de amonio) 20 mili molar ajustada a pH 4,6 con ácido acético.

Flujo de disolvente: 1 mililitro por minuto. Isocrático como se indique.

15 Detector: UV para el desarrollo del método a 220 o 270 nm o como se especifique. CL-EM usando electropulverización iónica negativa, monitorizando dos iones, M-H⁻ y el isótopo 37 del cloro (M+1⁻)

Espectrómetro de masas: CL-EM ZMD Benchtop de Waters / Micromass con fuente de electropulverización.

20 HPLC: Agilent 1050 o Shimadzu LC-10 según se indique.

Programa informático: 3396 Integrator de HP para el desarrollo del método y MassLynx V3.4 de Micromass para la cuantificación.

25 *Desarrollo de los métodos*

La mayoría de los ésteres profármaco se separaron usando acetonitrilo en agua entre al 10 y al 40 % con un tampón de acetato de amonio a pH 4,6. El ácido libre era un contaminante en las muestras en bruto o racemizadas. Los tiempos de retención de los ácidos dependieron del pH, pero la cromatografía de los ésteres, en general, no fue sensible al pH. La retención y la forma del pico se vieron afectadas por la concentración y el disolvente de inyección y las muestras se inyectaron usando una concentración mínima y la mezcla de disolvente de la columna para obtener los mejores resultados. El enantiómero deseado se retuvo menos y con un tiempo de retención de aproximadamente 5 minutos, el segundo enantiómero eluyó a desde 1 hasta 3 minutos después con separación total en la mayoría de los casos. En algunos casos, existió algo de asimetría de pico del enantiómero principal. Se ajustó la cantidad de acetonitrilo para dar un tiempo de retención de aproximadamente 5 minutos para el componente principal o una mejor separación de picos con una definición de los picos máxima. Los picos retenidos más de 10 minutos tendieron a ser demasiado anchos para cuantificar con precisión el segundo enantiómero a niveles inferiores al 2 %.

40 *Límite de detección:*

Se mezcló la muestra 1061-18-05 (el éster bencílico, MW 420) con material racemizado para dar una concentración esperada del 2,47 % del enantiómero no deseado. Se analizó la muestra repetidamente por CL-EM (monitorizando iones a 419 y 421), dando un promedio del 2,6 % de recuperación del segundo enantiómero con una DER del 10,9 %. Véase la figura 18.

Separación en fase normal:

50 Columna: Columna analítica: (S,S) WHELK-0 4,6 x 250 mm de Regis con precolumna Cyano de Peek Scientific (pieza n.º DC5-CN). Columna preparativa (S,S) WHELK-0 de Regis 20 x 250 mm con precolumna Cyano.

Disolventes: "A" 10 % de disolvente B en hexano. "B" Isopropanol (IPA), etanol o acetato de etilo tamponado con acetato de amonio o trietilamina cuando se indique.

55 Flujo de disolvente: 1,2, 1,5 o 25 mililitros por minuto. Isocrático según se indique.

Detector: UV para el desarrollo del método a 270 nm o como se especifique.

HPLC: Agilent 1050, Gilson 321 o Shimadzu LC-10 según se indique.

60 Programa informático: Unipoint de Gilson, 3396 Integrator de HP o MassLynx V 3.4 de Micromass, según se indique.

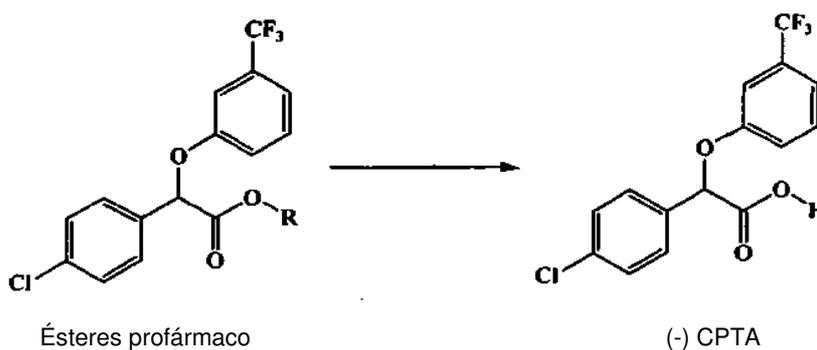
Desarrollo de los métodos

65 La mayoría de los ésteres profármaco se separaron usando alcohol en hexano entra al 10 y al 40 % sin modificador. El enantiómero deseado se retuvo menos. Con un tiempo de retención de aproximadamente 5 minutos para el

primer enantiómero, el segundo enantiómero eluyó a desde 1 hasta 3 minutos después con separación total. Los compuestos con un grupo amina básico necesitaron acetato de amonio (0,2 %) como modificador para definir la forma del pico. Se probó con trietilamina, pero no fue eficaz como modificador. Normalmente, el IPA fue el primer disolvente probado. Si las separaciones no eran totales, se usaron etanol o etilacetato. Se midió el exceso enantiomérico para cada compuesto usando cromatografía de fase inversa, cuando fue posible, pero en varios casos la separación sólo fue posible usando fase normal. En estos casos, los datos se recogieron y se integraron usando el programa informático MassLynx de MicroMass para que fueran coherentes con los otros análisis (figura 19).

Ejemplo 21

Este ejemplo ilustra la hidrólisis plasmática de diversos ésteres profármaco del enantiómero (S) de CPTA en condiciones fisiológicas. La hidrólisis se monitorizó y se analizó por HPLC. El producto hidrolítico se identificó mediante comparación con (-)-CPTA y se calcularon las tasas de hidrólisis.



Se obtuvo plasma humano (heparinizado, combinado) de Golden West Biologicals Inc., EE.UU.; la incubación del plasma se llevó a cabo en un agitador de baño de agua (New Brunswick Scientific, Inc.); el análisis de las muestras se llevó a cabo en un sistema de HPLC 1100 de Agilent.

Procedimiento hidrolítico general:

Preparar soluciones madre de profármaco 31,25 o 62,5 mM en DMSO al 100 %. Añadir 4 µl de soluciones madre 31,25 o 62,5 mM a 1,0 ml de plasma en un tubo de microcentrífuga para obtener una concentración de plasma de 125 o 250 µM, mezclar suavemente. Se transfieren alícuotas de 50 µl a viales de microcentrífuga de 15. Inmediatamente, se retiran tres muestras a un congelador a aproximadamente -80 °C (punto temporal 0), las muestras restantes se incuban en un agitador de baño a 37 °C. Se retiran tres muestras a los 30 min, a las 2, a las 7 y a las 24 horas y se almacenan a -80 °C hasta su análisis. Las concentraciones relativas de los compuestos MBX se determinan mediante métodos de HPLC. Si existen suficientes puntos de datos, puede calcularse la tasa de hidrólisis usando el programa informático WinNonlin. La tabla 10 proporciona un resumen de las semividas en plasma de algunos ésteres profármaco y las figuras 20A-20G ilustran las curvas hidrolíticas de esos ésteres profármaco.

HPLC: Sistema de HPLC 1100 de Agilent

Columna: Luna C18(2) 5u 150 x 2 mm de Phenomenex lote n.º 105554-2

Luna C18(2) 5u 250 x 4,6 mm de Phenomenex lote n.º 103992-8

Caudal de disolvente: 0,25 o 1 ml / minuto

Volumen de inyección: 20 o 40 µl

Tiempo de recorrido: 7 a 15 min

Composición del disolvente: ACN del 45 al 76 % / TFA en agua al 0,1 % (v/v)

Detección: Detector de UV-visible de haz de diodos a 220 nm

Tabla 10. Semivida en plasma de profármacos de (-) CPTA.

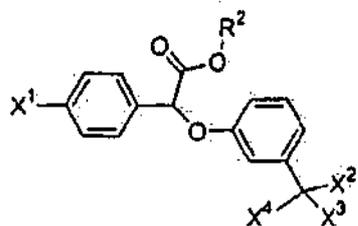
| Número de compuesto | T _{1/2} en plasma (horas) |
|---------------------|------------------------------------|
| 19.1 | 5,5 |

ES 2 395 267 T3

| | |
|-------|------|
| 19.2 | <1 |
| 19.3 | <1 |
| 19.4 | <1 |
| 19.5 | <0,5 |
| 19.6 | 6,3 |
| 19.7 | <7 |
| 19.8 | <2 |
| 19.9 | <1 |
| 19.10 | <1 |
| 19.11 | <0,5 |
| 19.12 | <0,5 |
| 19.13 | <0,5 |
| 19.14 | <2 |
| 19.15 | <1 |
| 19.16 | <0,5 |
| 19.17 | <1 |
| 19.18 | <1 |
| 19.19 | <0,5 |
| 19.20 | <0,5 |
| 19.21 | <2 |
| 19.22 | <1 |
| 19.23 | <1 |
| 19.24 | <0,5 |
| 19.25 | <0,5 |
| 19.26 | <1 |
| 19.27 | <1 |
| 19.28 | <0,5 |

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula II,



(II)

en la que:

10 R^2 es un miembro seleccionado del grupo que consiste en: alquilo cíclico C_1-C_8 , alqueno C_2-C_5 y alquino C_2-C_5 , en el que los grupos están sustituidos opcionalmente con uno o más átomos de halógeno; fenilo, naftilo y piridilo, en el que los grupos están sustituidos opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 , $-NO_2$, $-S(O)_m$ (alquilo C_1-C_5), $-OH$, $-NR^3R^4$, $-CO_2R^5$, $-NR^3COR^4$, $-NR^3CONR^3R^4$ y $-C_vF_w$;

15 X^1 es un halógeno; y

X^2 , X^3 y X^4 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno y halógeno, con la condición de que no más de dos de X^2 , X^3 y X^4 sean hidrógeno;

20 en donde m es de 0 a 2, v es de 1 a 3 y w es de 1 a $(2v + 1)$; y en donde R^3 y R^4 son independientemente H, alquilo C_1-C_5 , fenilo o bencilo; y en donde R^5 es H, alquilo C_1-C_5 o NR^3R^4 ;

25 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables;

en la que la composición contiene al menos el 90 % en peso del estereoisómero (-) del compuesto y el 10 % en peso o menos del estereoisómero (+) del compuesto.

30 2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en forma de un comprimido o cápsula.

3. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que la composición contiene al menos el 99 % en peso del estereoisómero (-) del compuesto y el 1 % en peso o menos del estereoisómero (+) del compuesto.

35 4. El estereoisómero (-) del compuesto de fórmula (II) como se describe en la reivindicación 1 para su uso en la modulación de la diabetes de tipo 2.

5. El estereoisómero (-) del compuesto de fórmula (II) como se describe en la reivindicación 1 para su uso en la modulación de la resistencia a la insulina.

40 6. El estereoisómero (-) del compuesto de fórmula (II) como se describe en la reivindicación 1 para su uso en la modulación de la hiperuricemia.

45 7. El uso del estereoisómero (-) del compuesto de fórmula (II) como se describe en la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para la modulación de la diabetes de tipo 2.

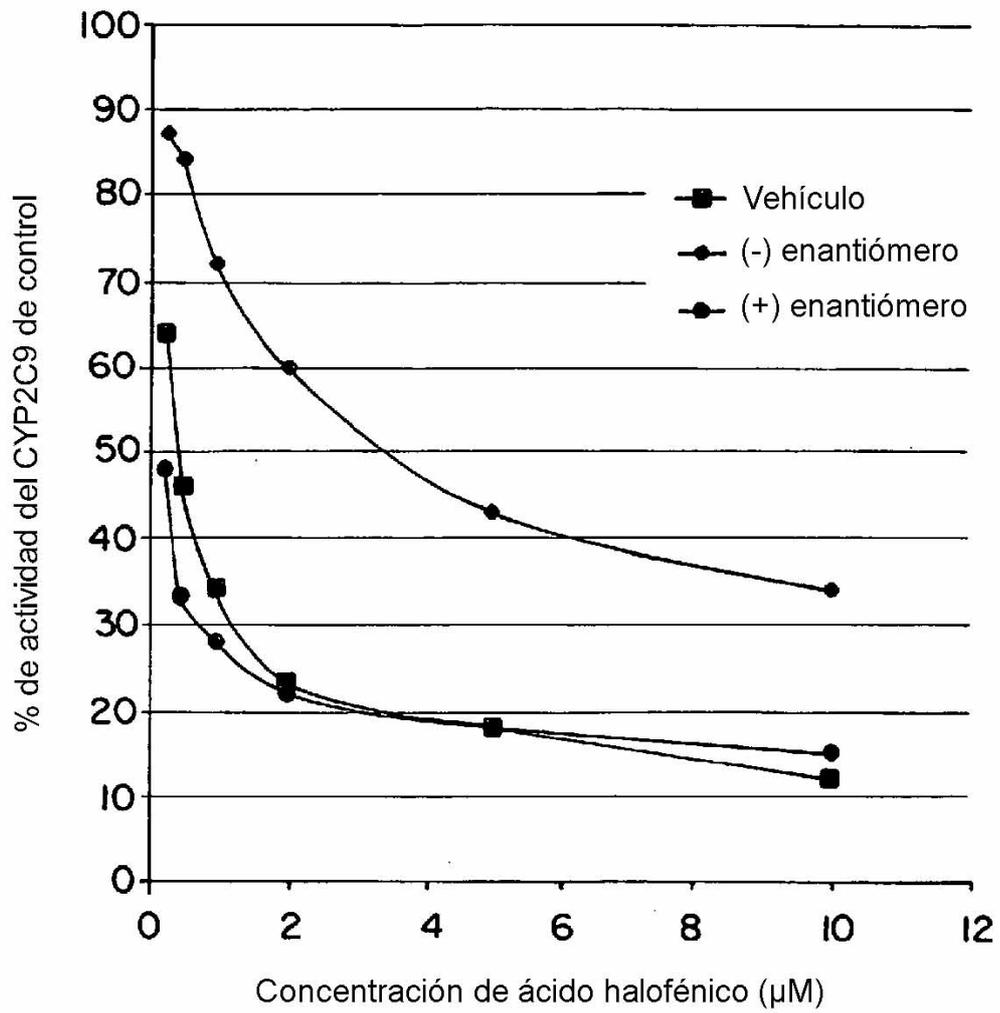
8. El uso del estereoisómero (-) del compuesto de fórmula (II) como se describe en la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para la modulación de la resistencia a la insulina.

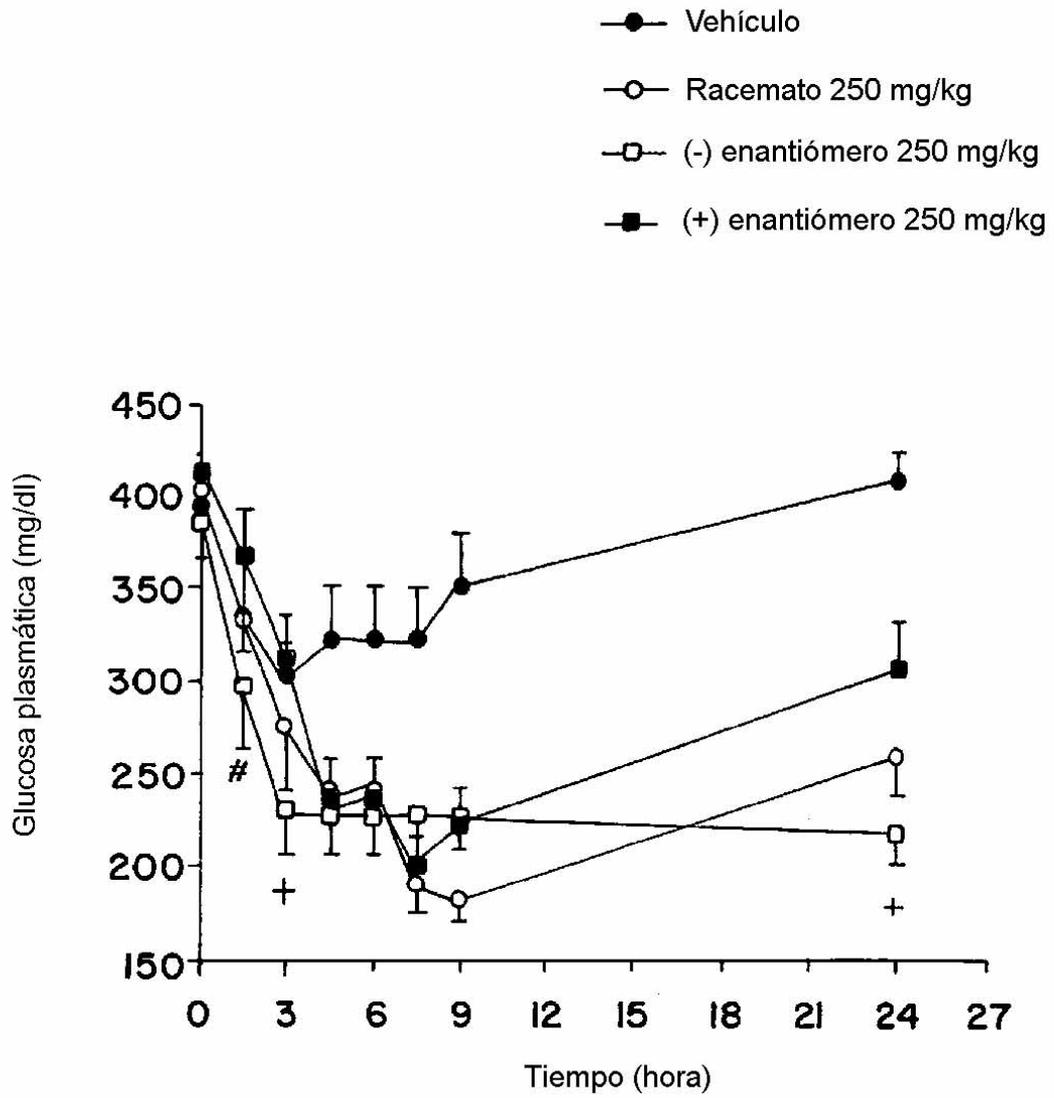
50 9. El uso del estereoisómero (-) del compuesto de fórmula (II) como se describe en la reivindicación 1 para la fabricación de un medicamento para la modulación de la hiperuricemia.

10. El compuesto para su uso o el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 9, en el que el compuesto o medicamento debe administrarse por infusión intravenosa, administración transdérmica o administración oral.

55

11. El compuesto para su uso o el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 9, en el que el compuesto debe suministrarse en una cantidad de 100 mg a 3000 mg al día, preferentemente de 500 mg a 1500 mg al día, más preferentemente de 5 mg a 250 mg por kg al día.
- 5 12. El compuesto para su uso o el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 11, en el que el compuesto debe administrarse junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

**FIG. 1.**



P = 0,0986 en comparación con el (+) enantiómero
 + P < 0,05 en comparación con el (+) enantiómero

FIG. 2.

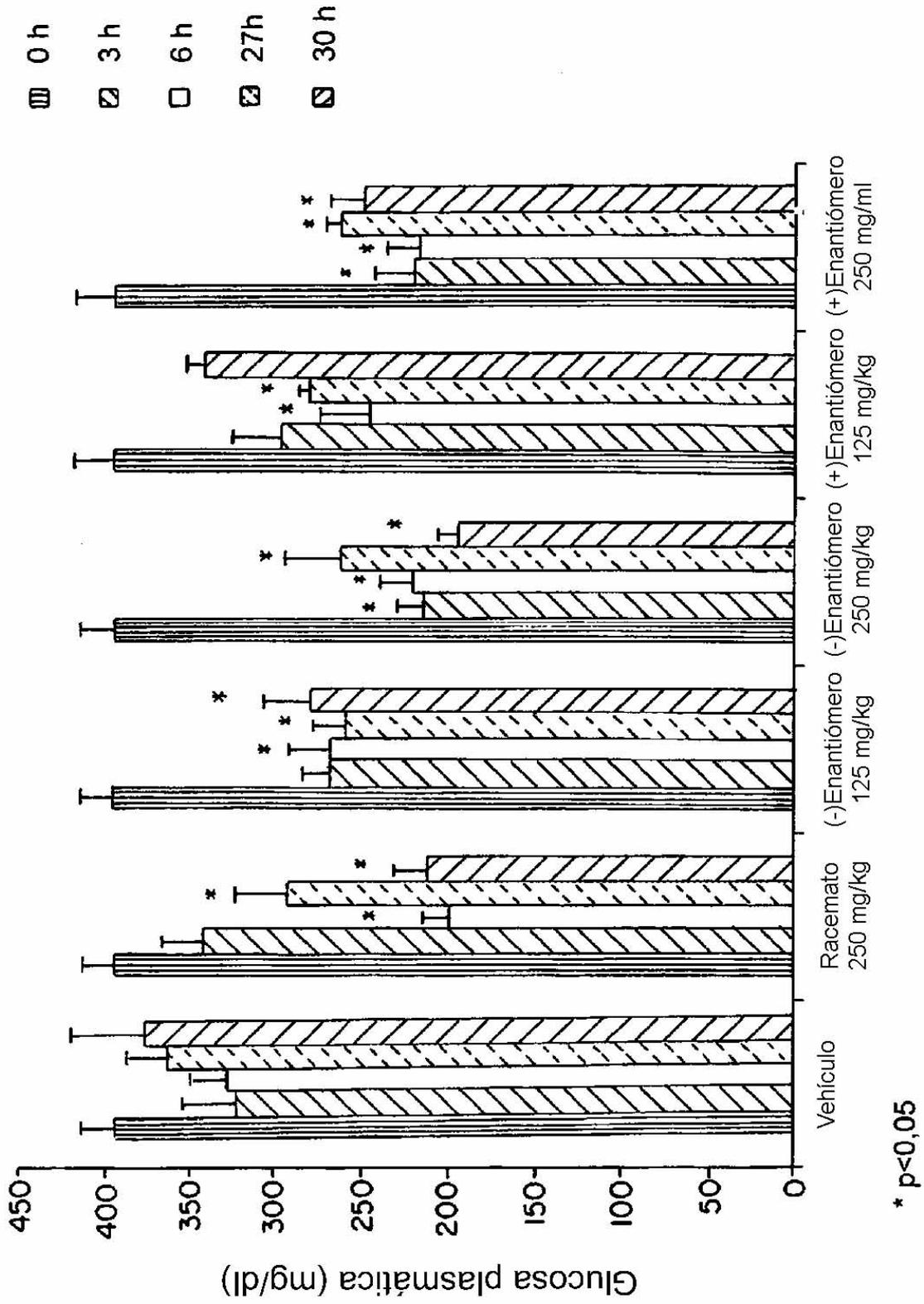


FIG. 3.

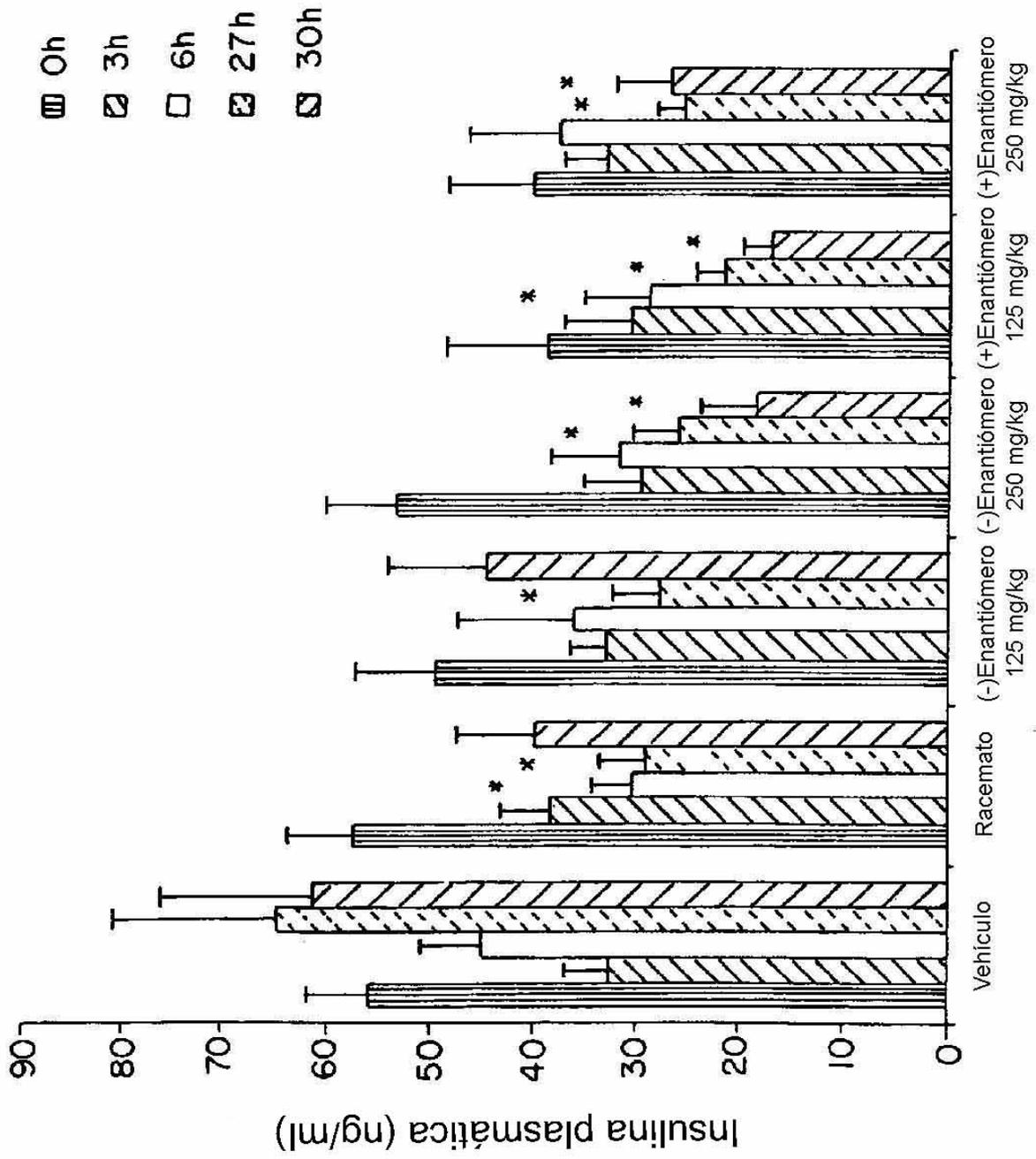
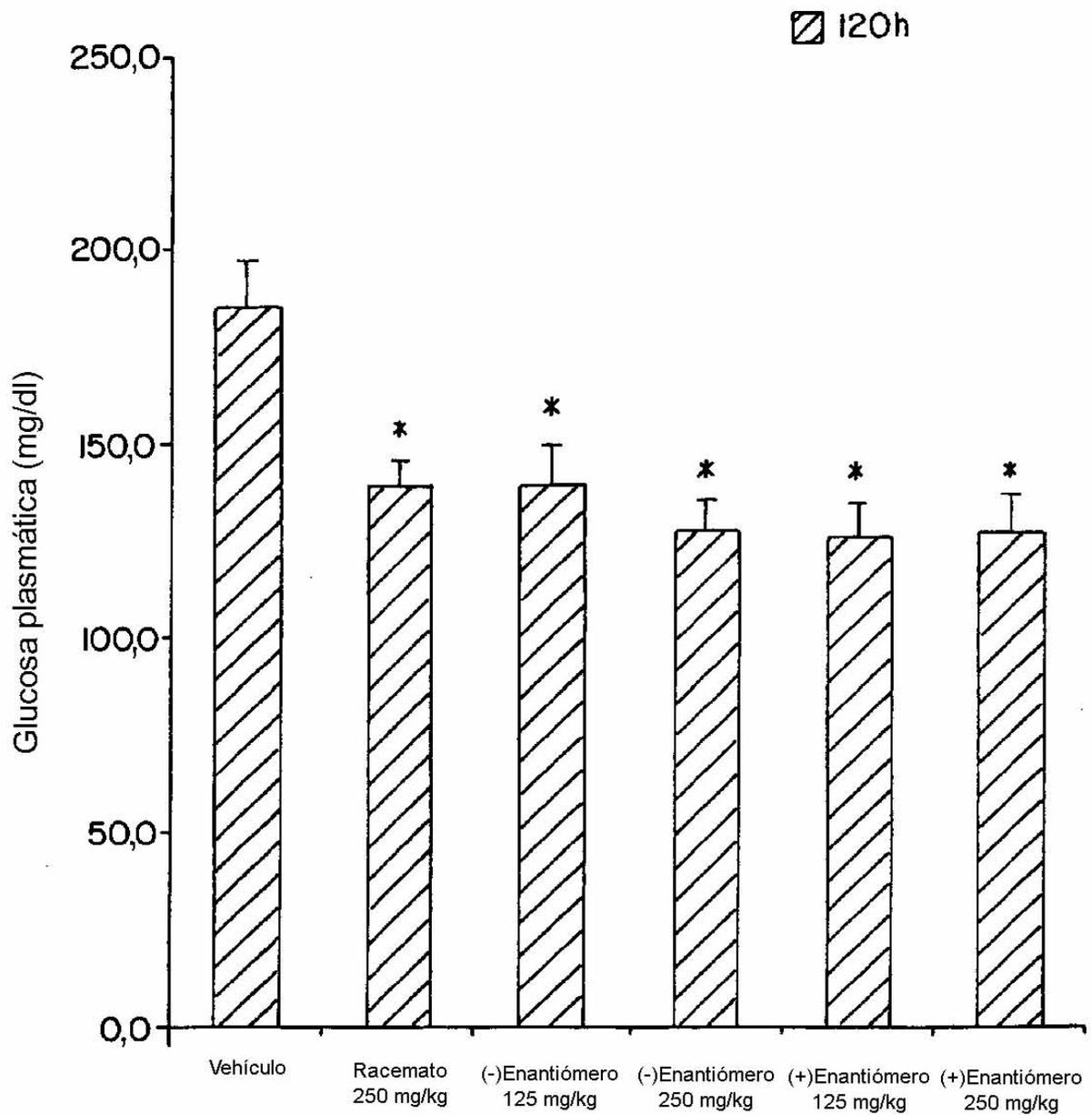
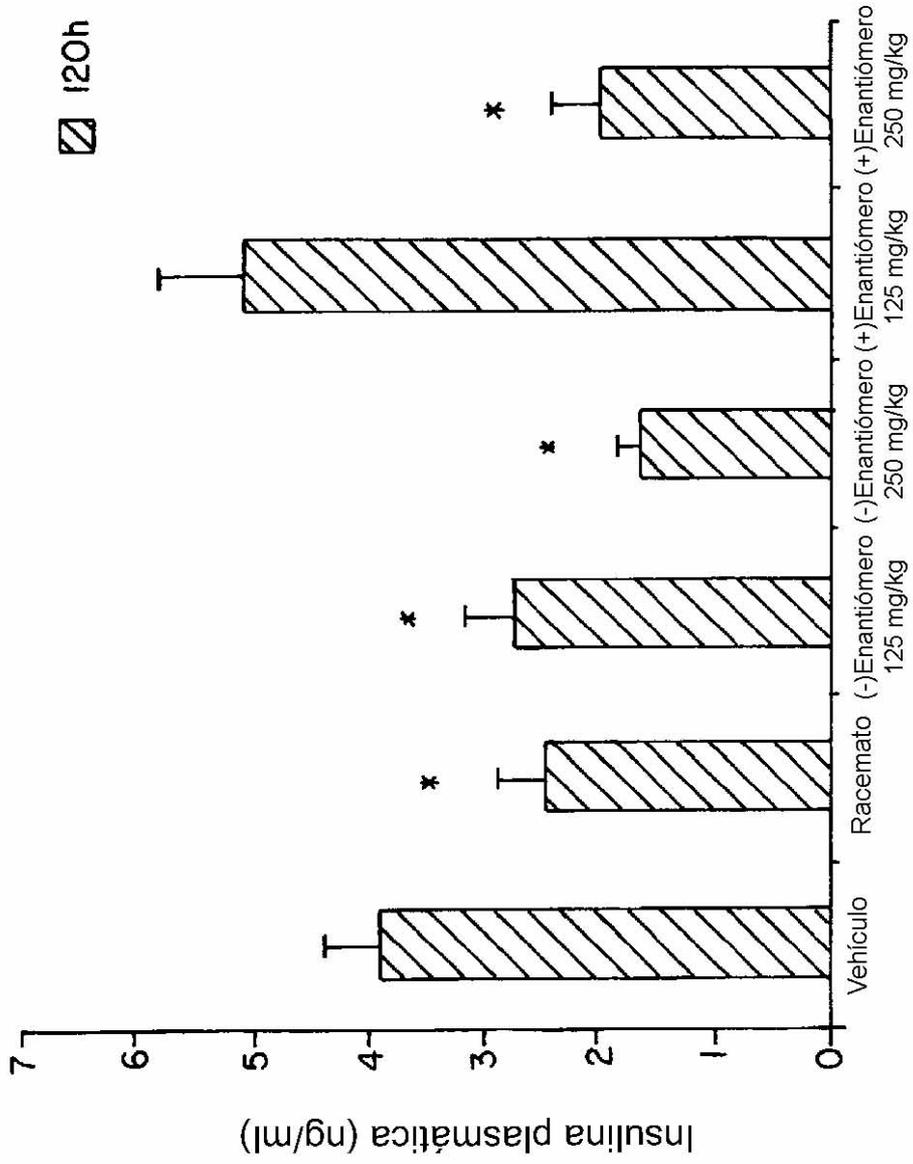


FIG. 4. *P < 0,05



*P < 0,01

FIG. 5.



* P < 0,05

FIG. 6.

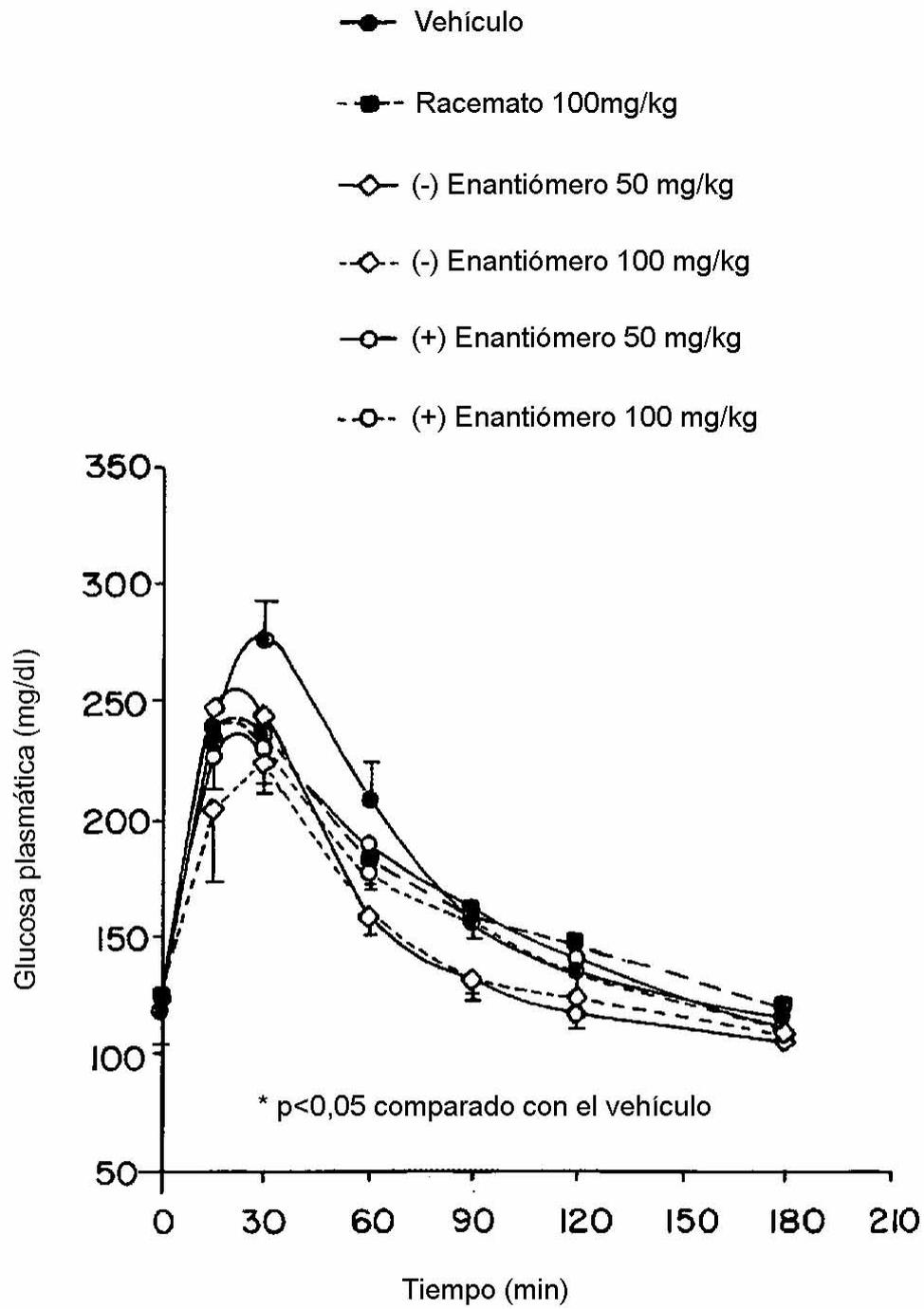


FIG. 7A.

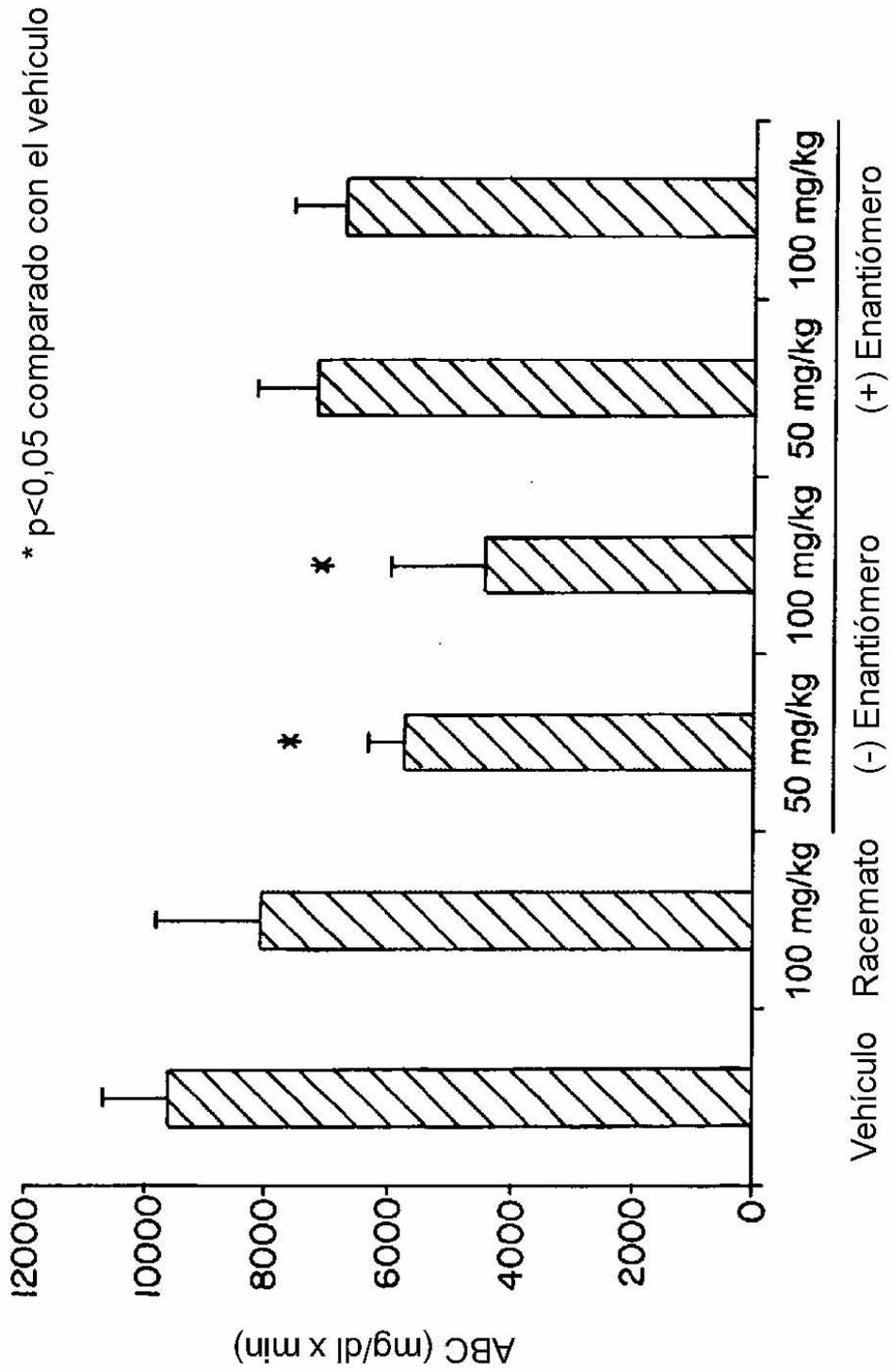
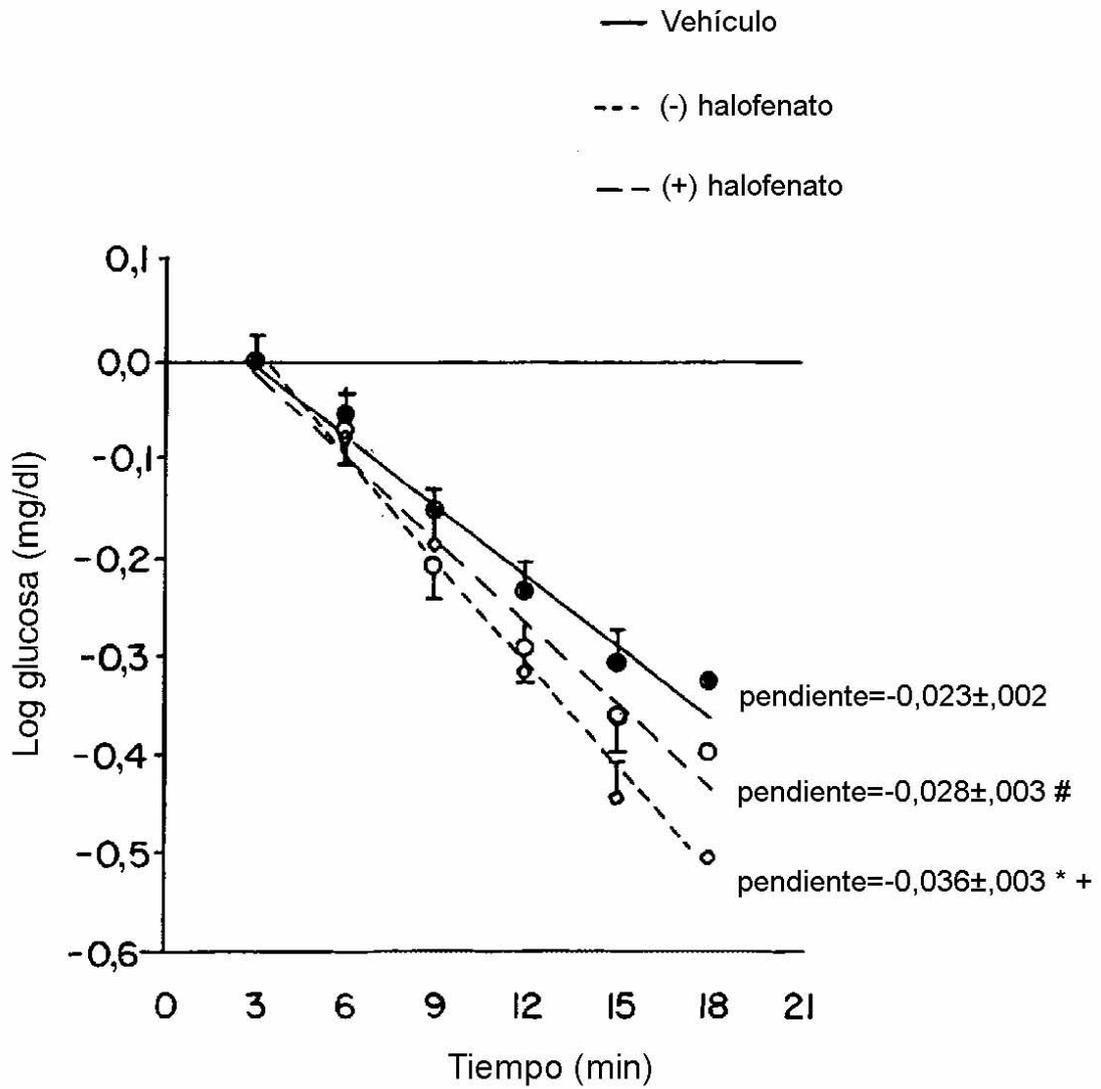


FIG. 7B.



* $p < 0,01$ comparado con el vehículo
 + $p < 0,05$ comparado con (+) halofenato
 # $p = 0,083$ comparado con el vehículo

FIG. 8.

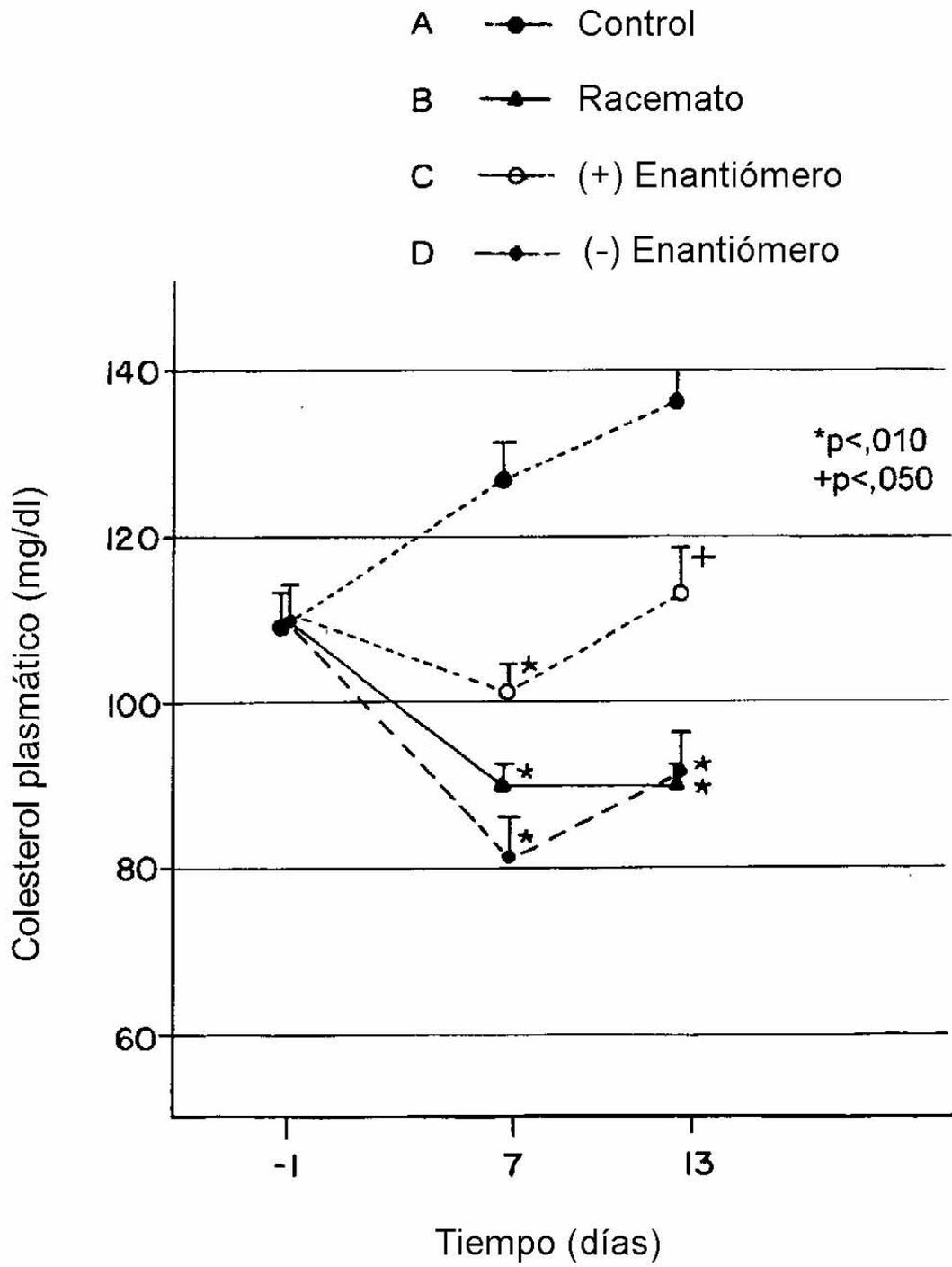


FIG. 9A.

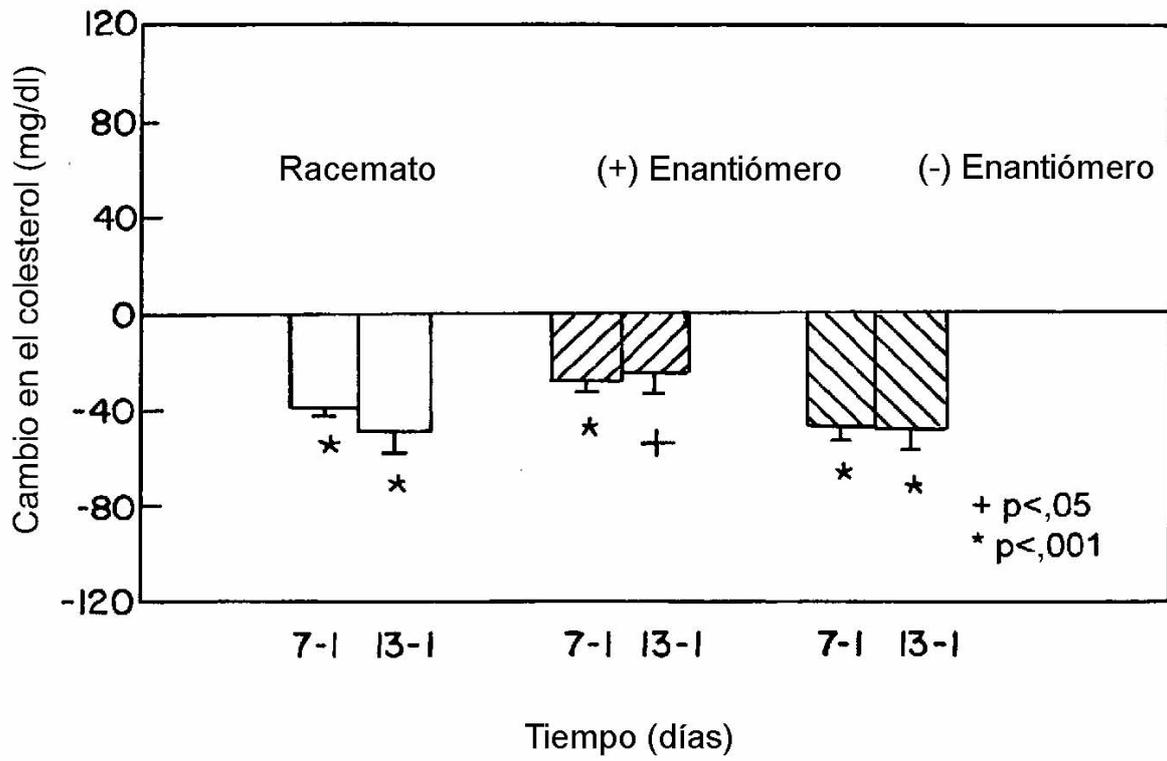


FIG. 9B.

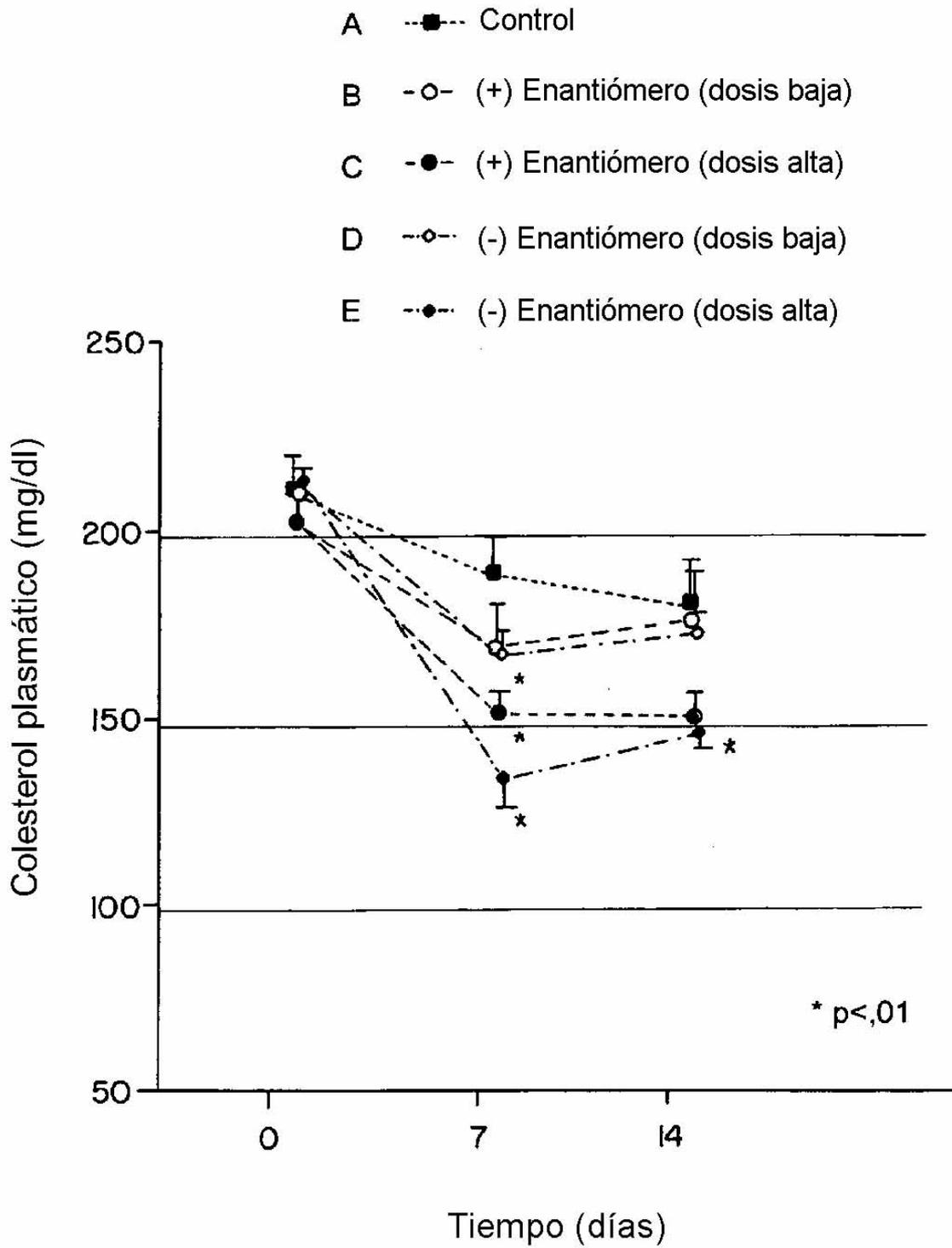


FIG. 10A.

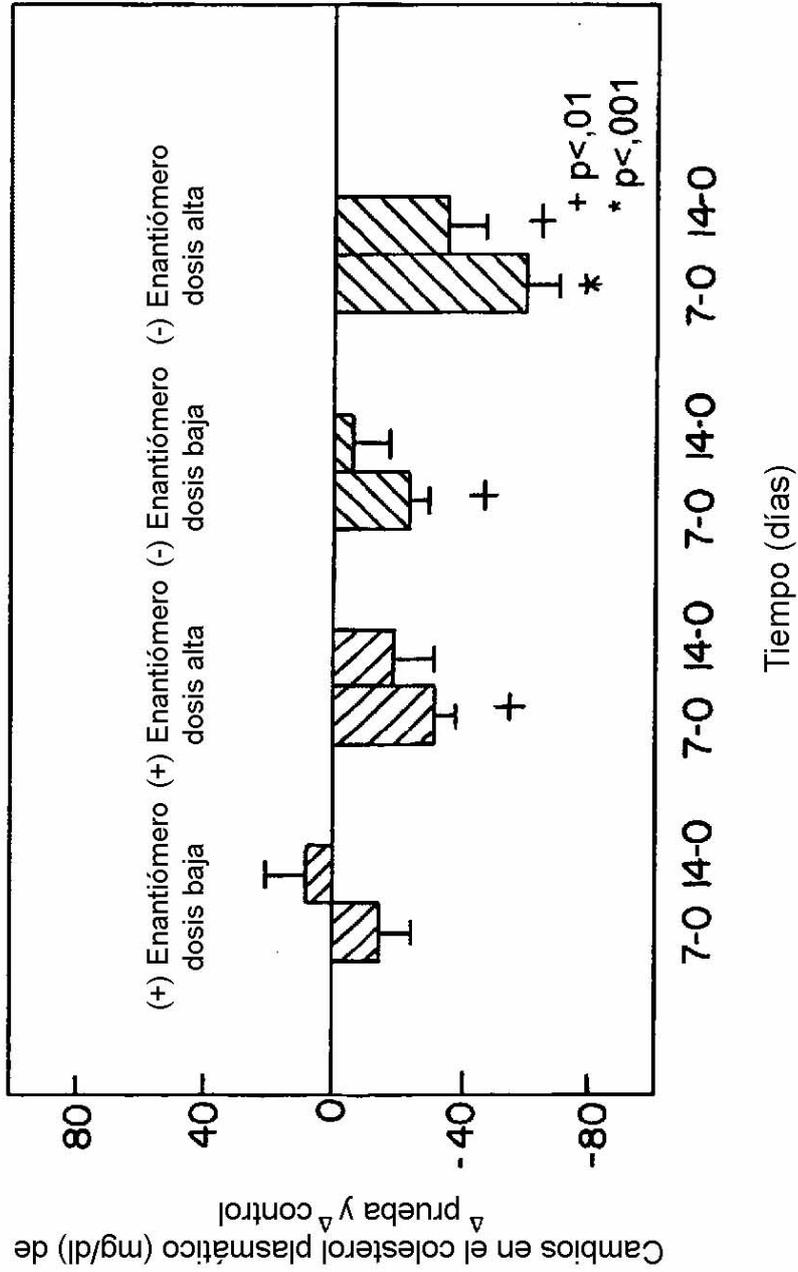


FIG. 10B.

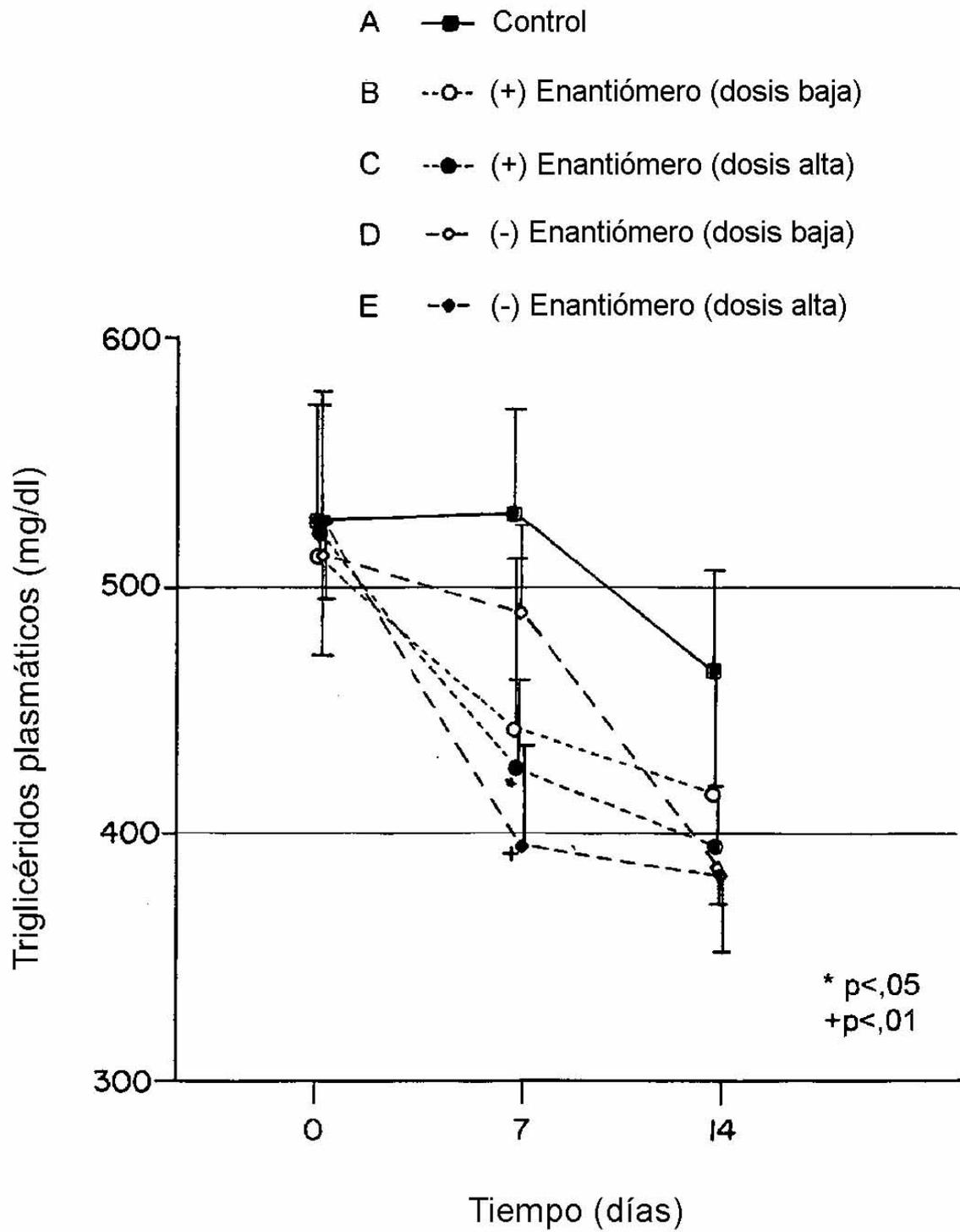


FIG. 11A.

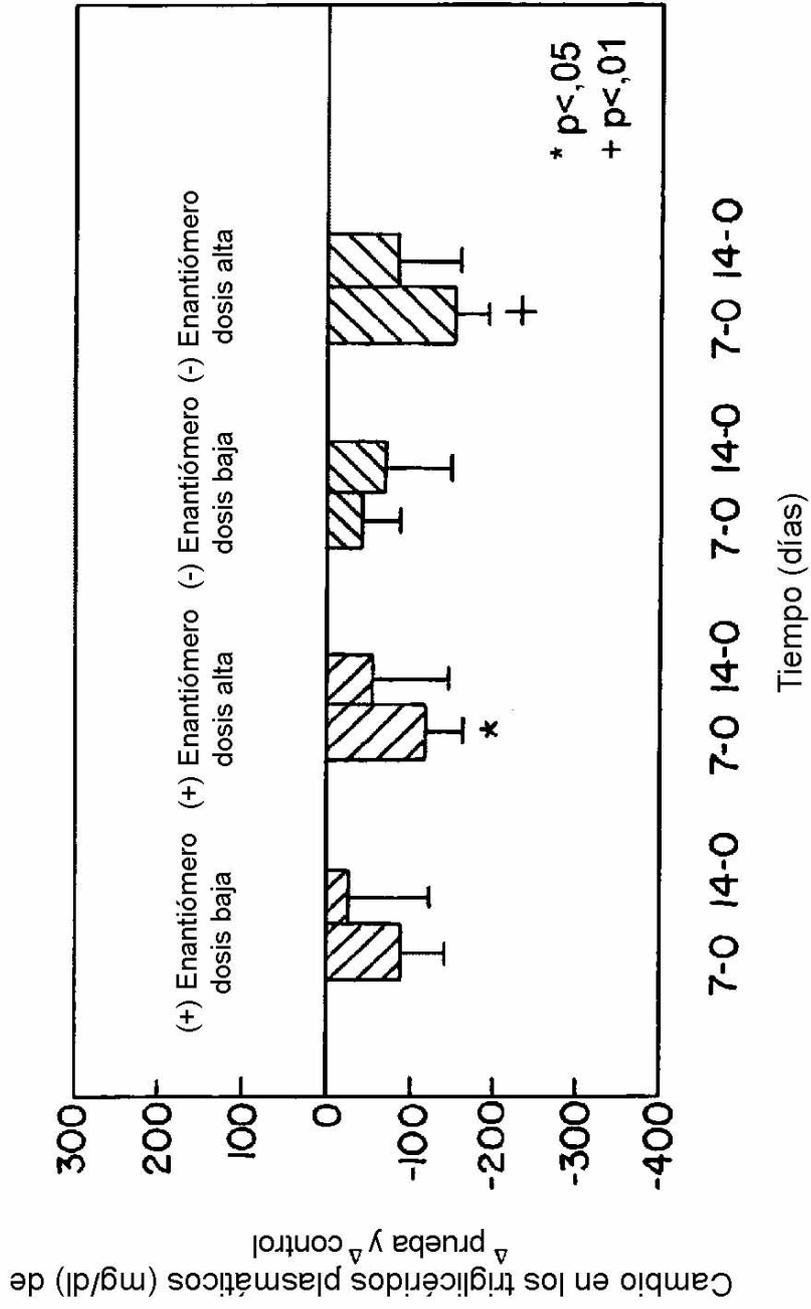


FIG. 11B.

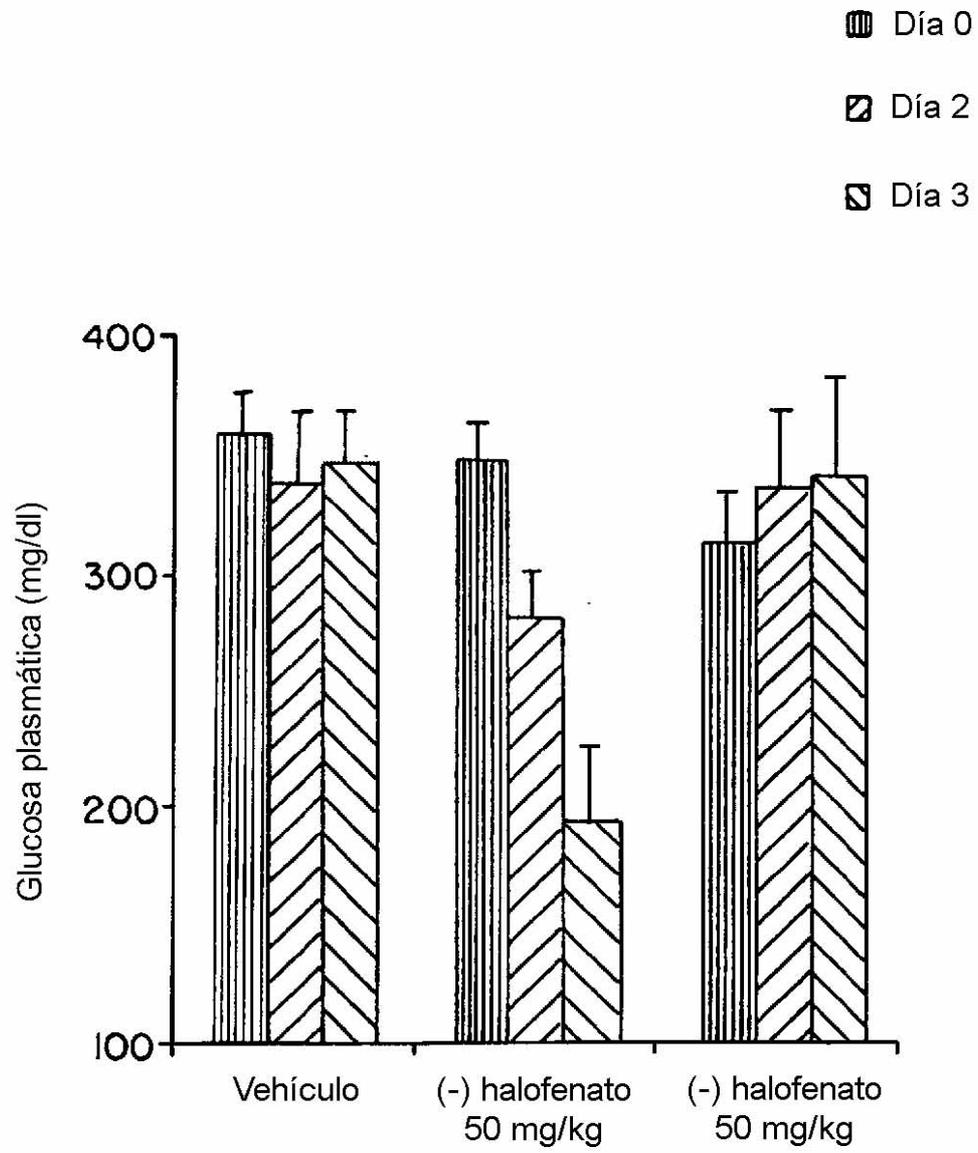


FIG. 12.

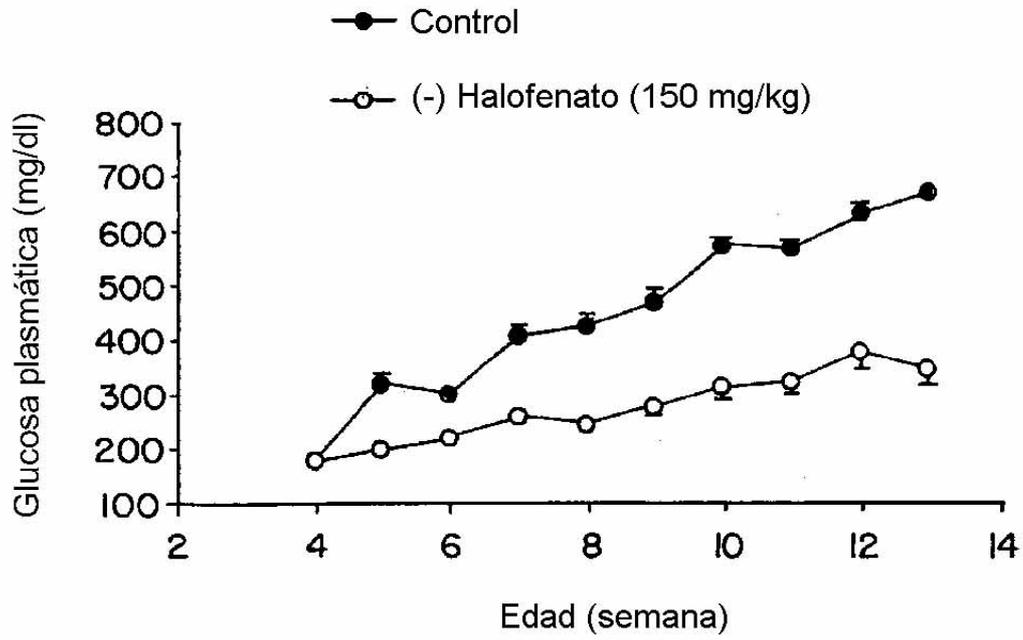


FIG. 13.

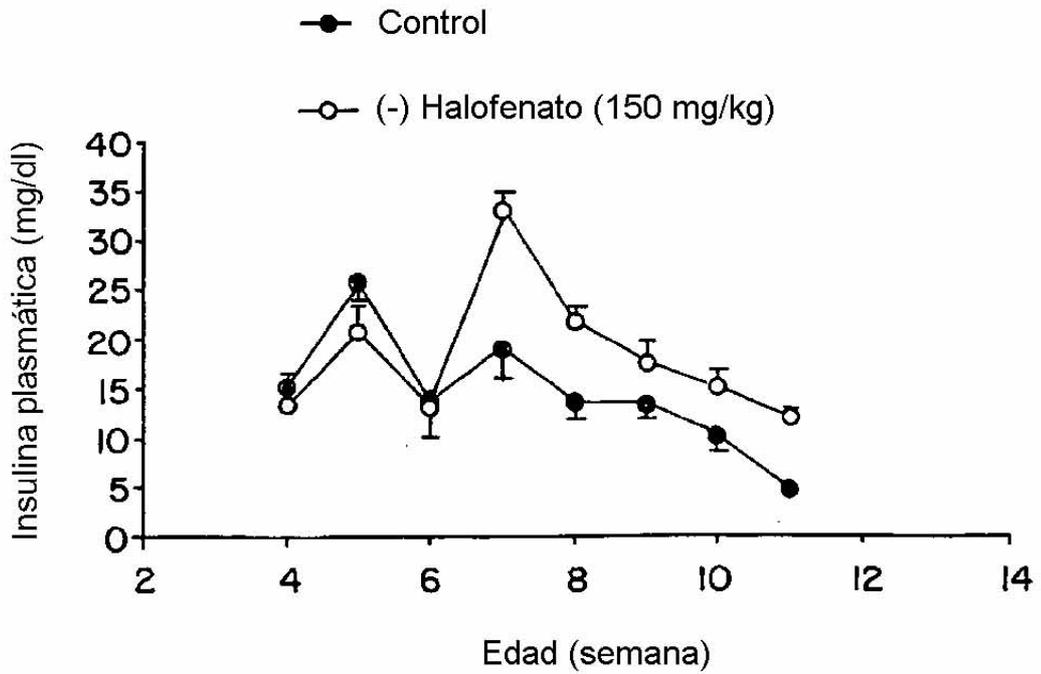


FIG. 14.

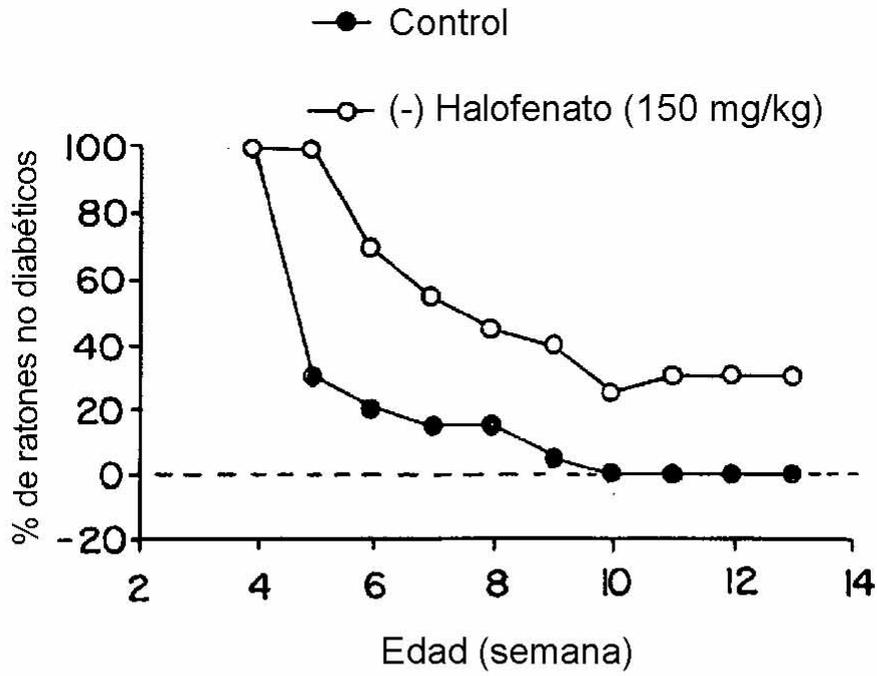


FIG. 15.

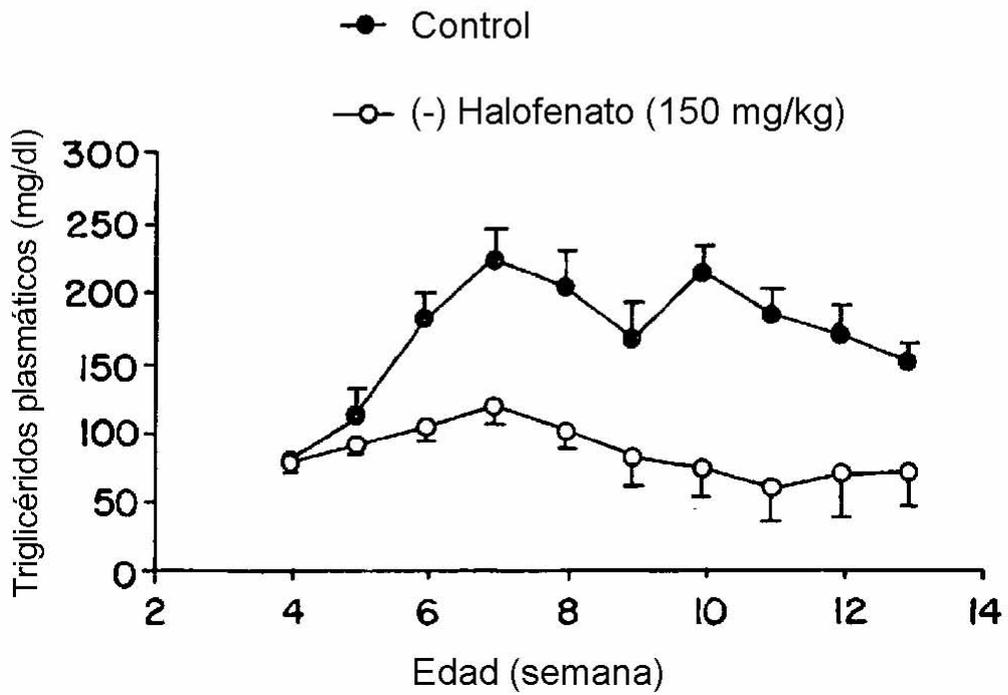


FIG. 16.

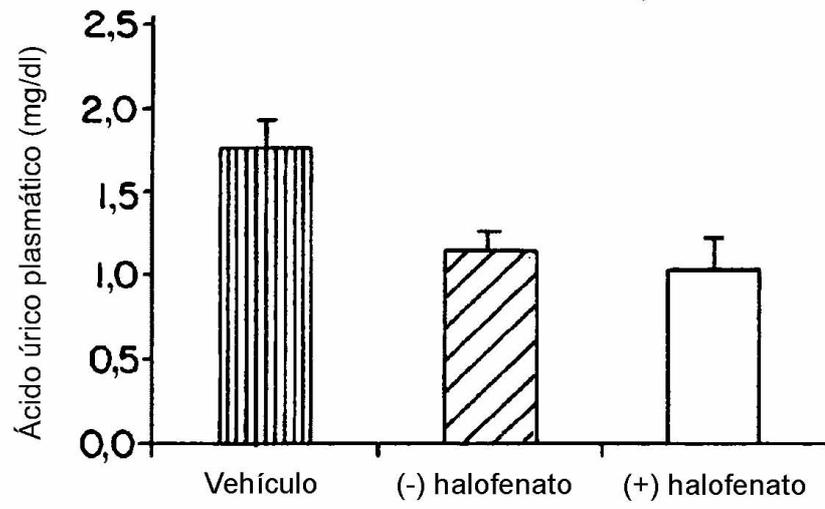


FIG. 17.

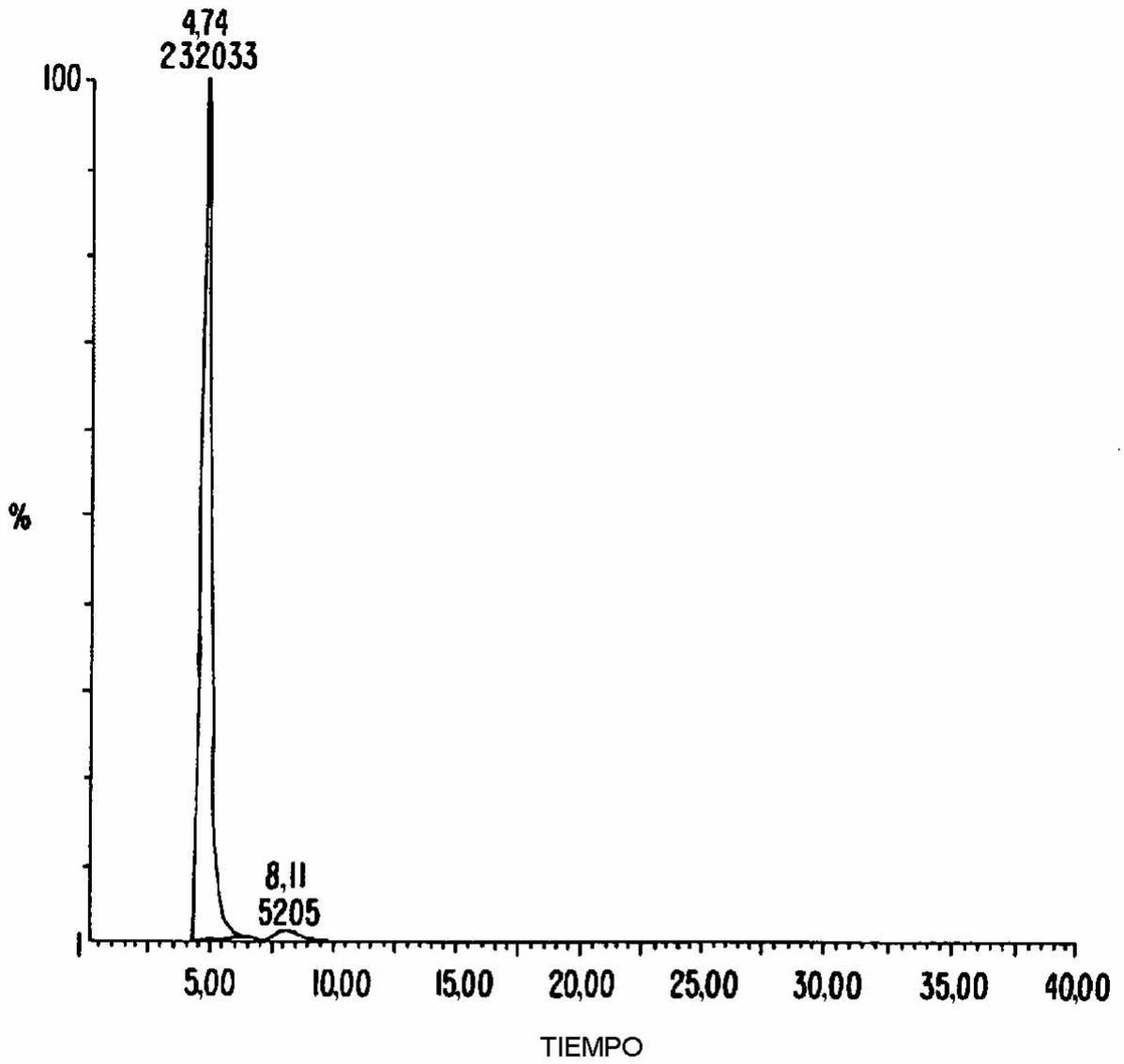


FIG. 18.

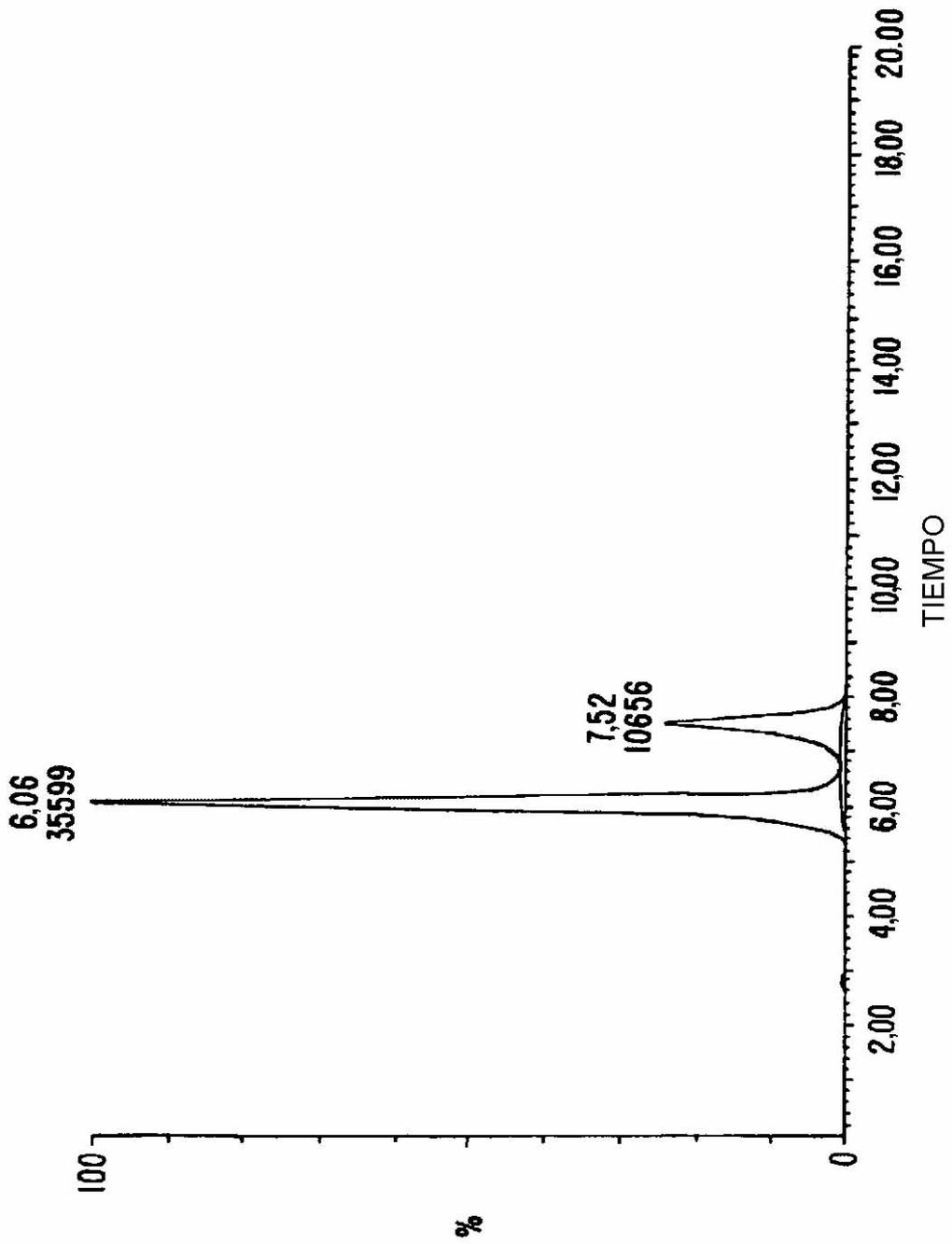


FIG. 19.

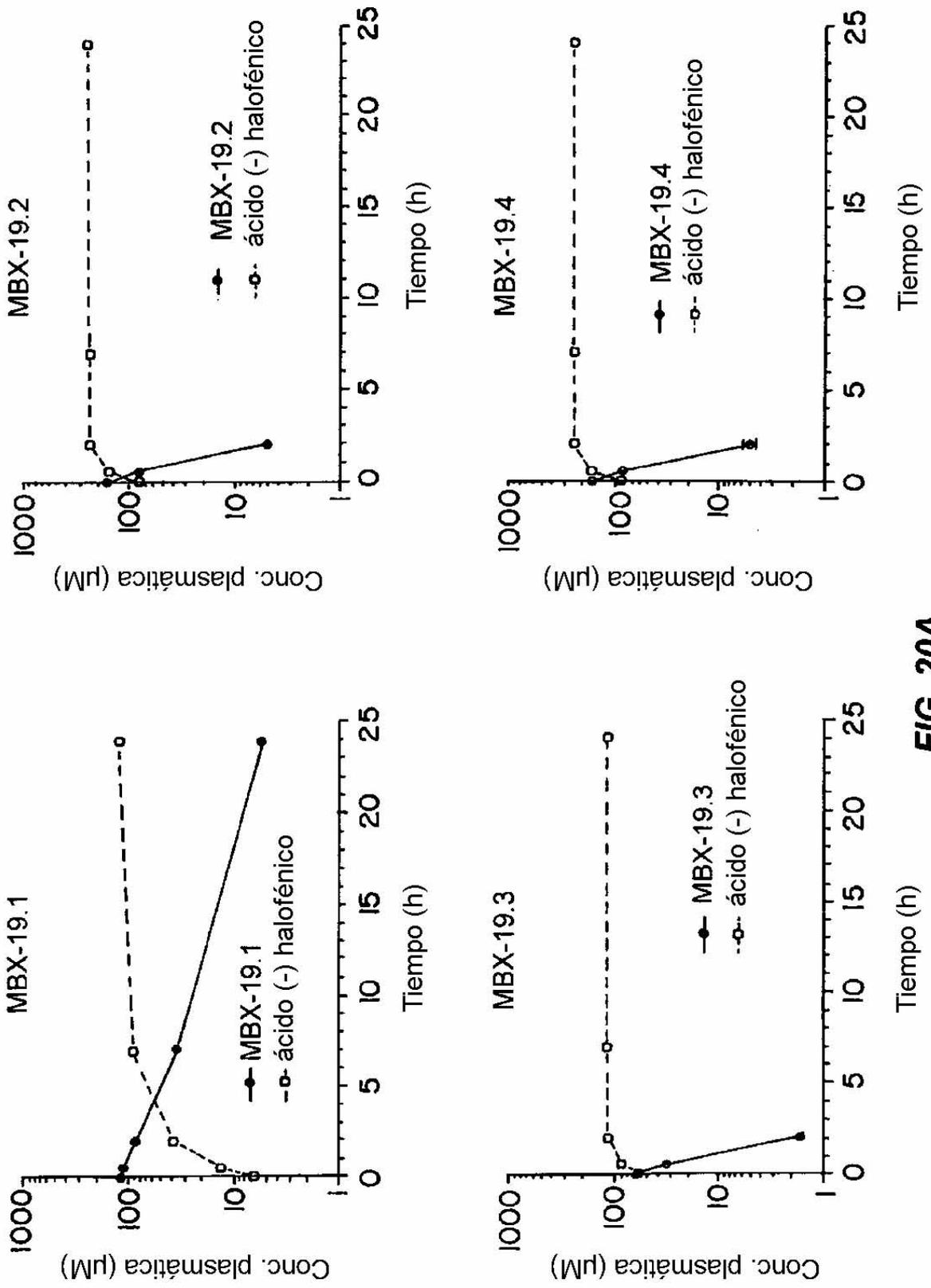


FIG. 20A.

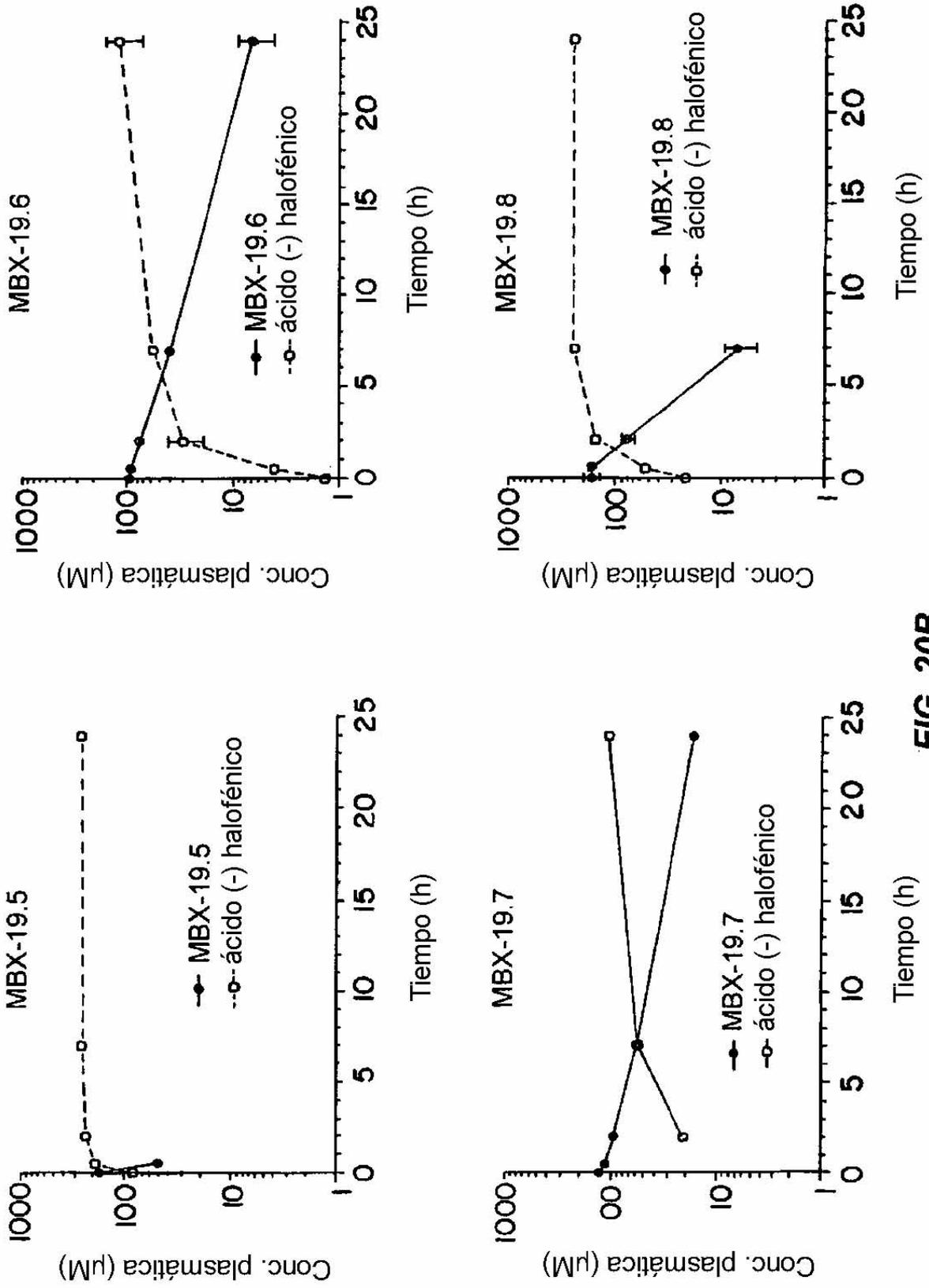


FIG. 20B.

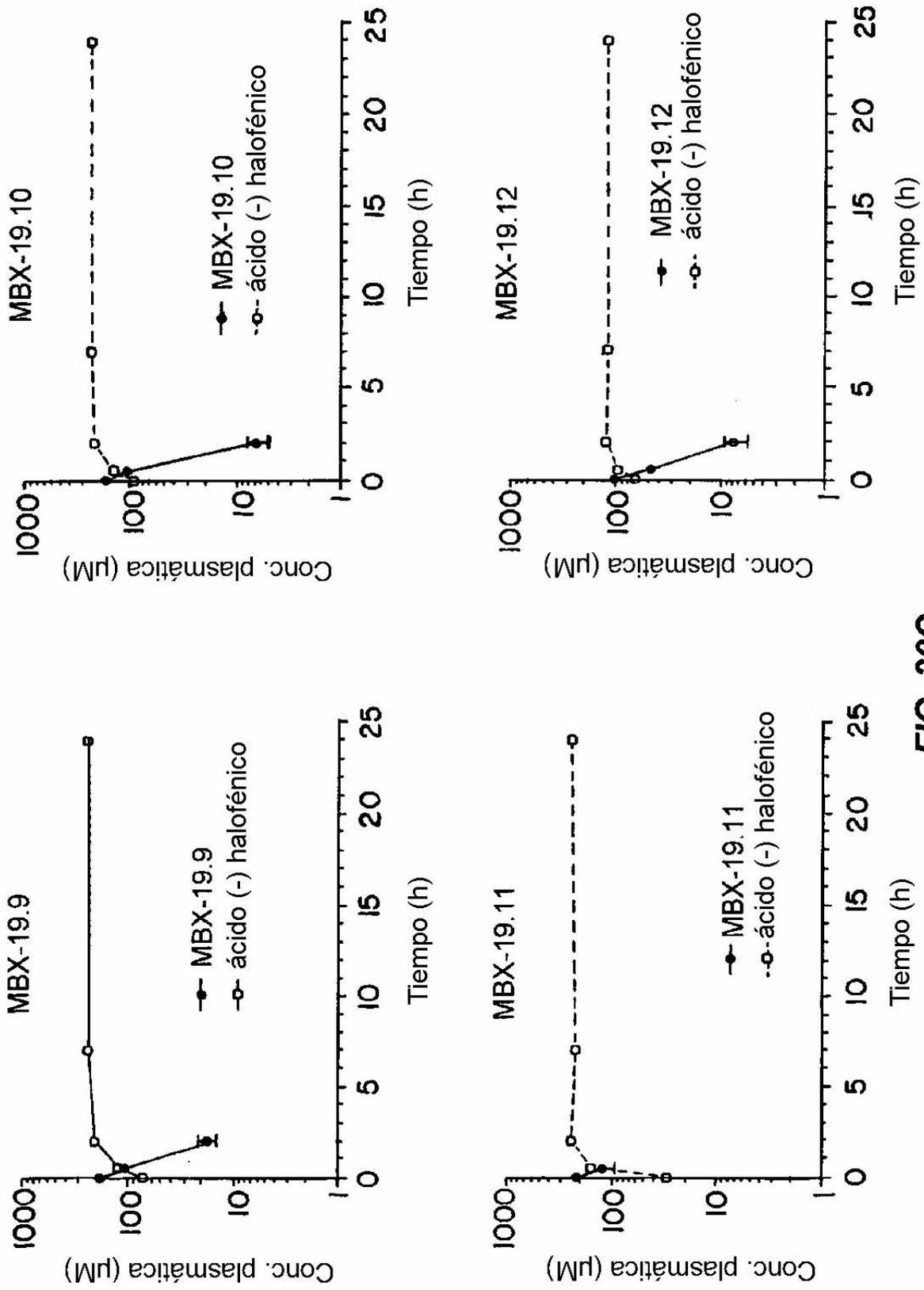


FIG. 20C.

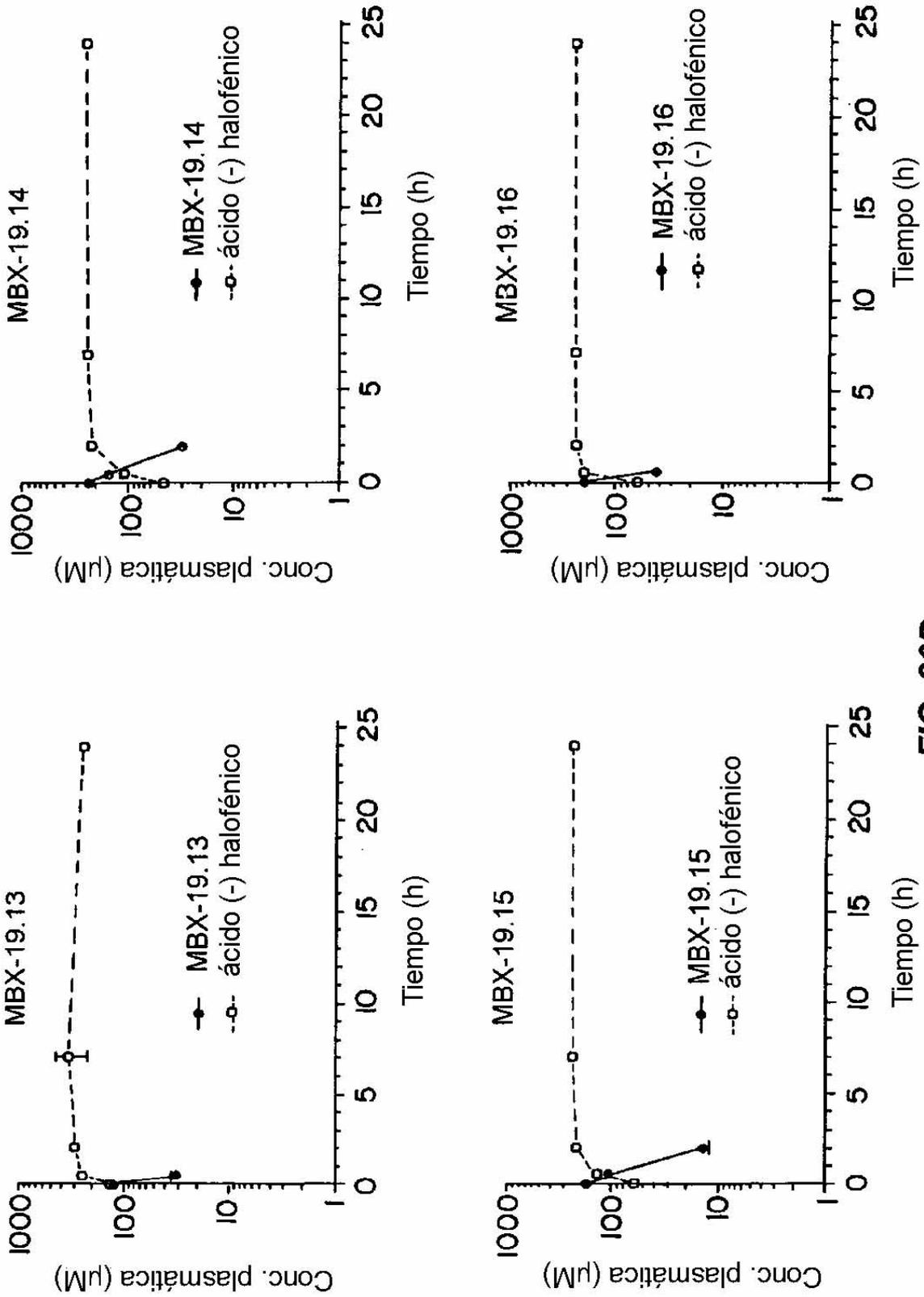


FIG. 20D.

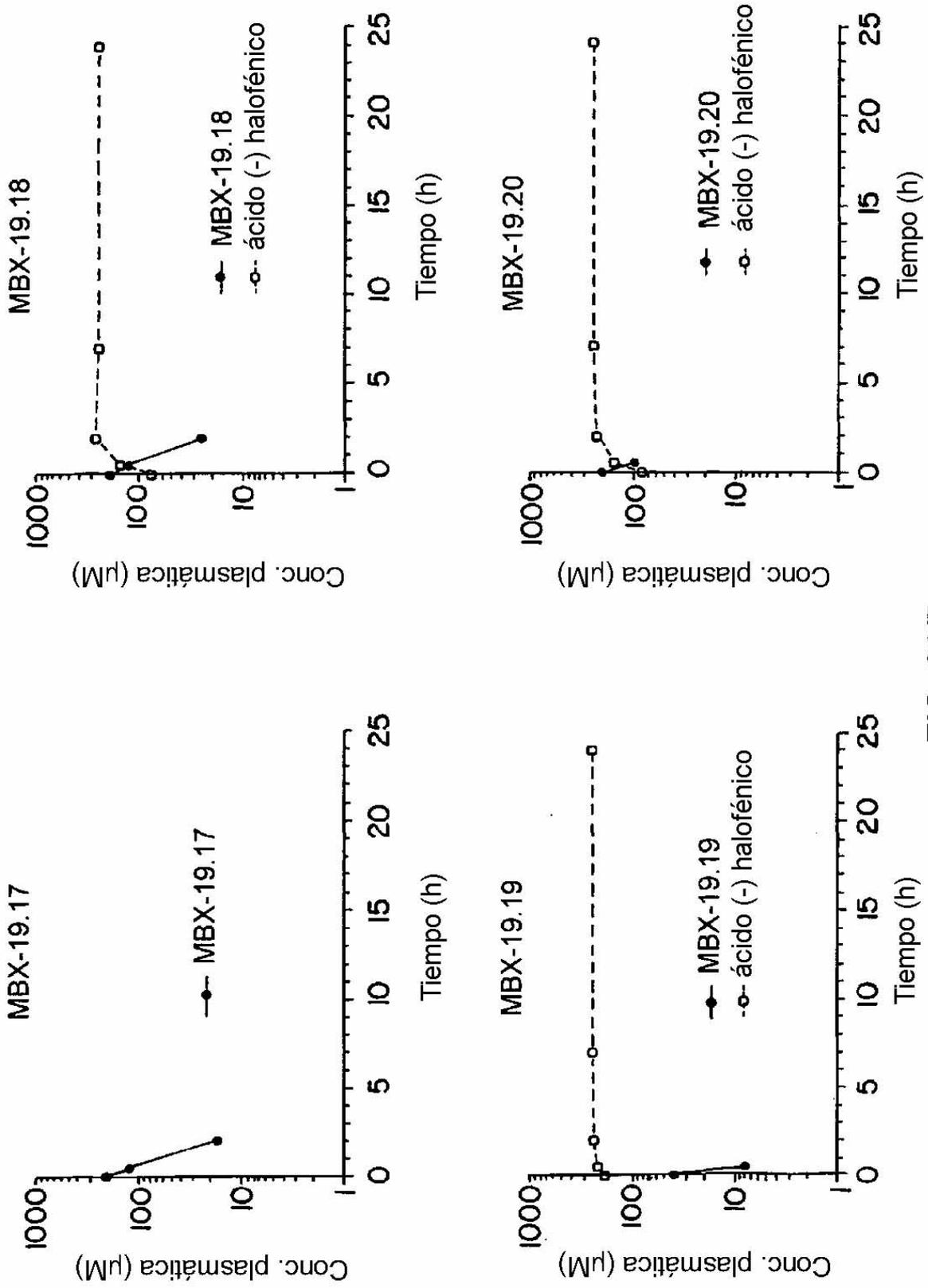


FIG. 20E.

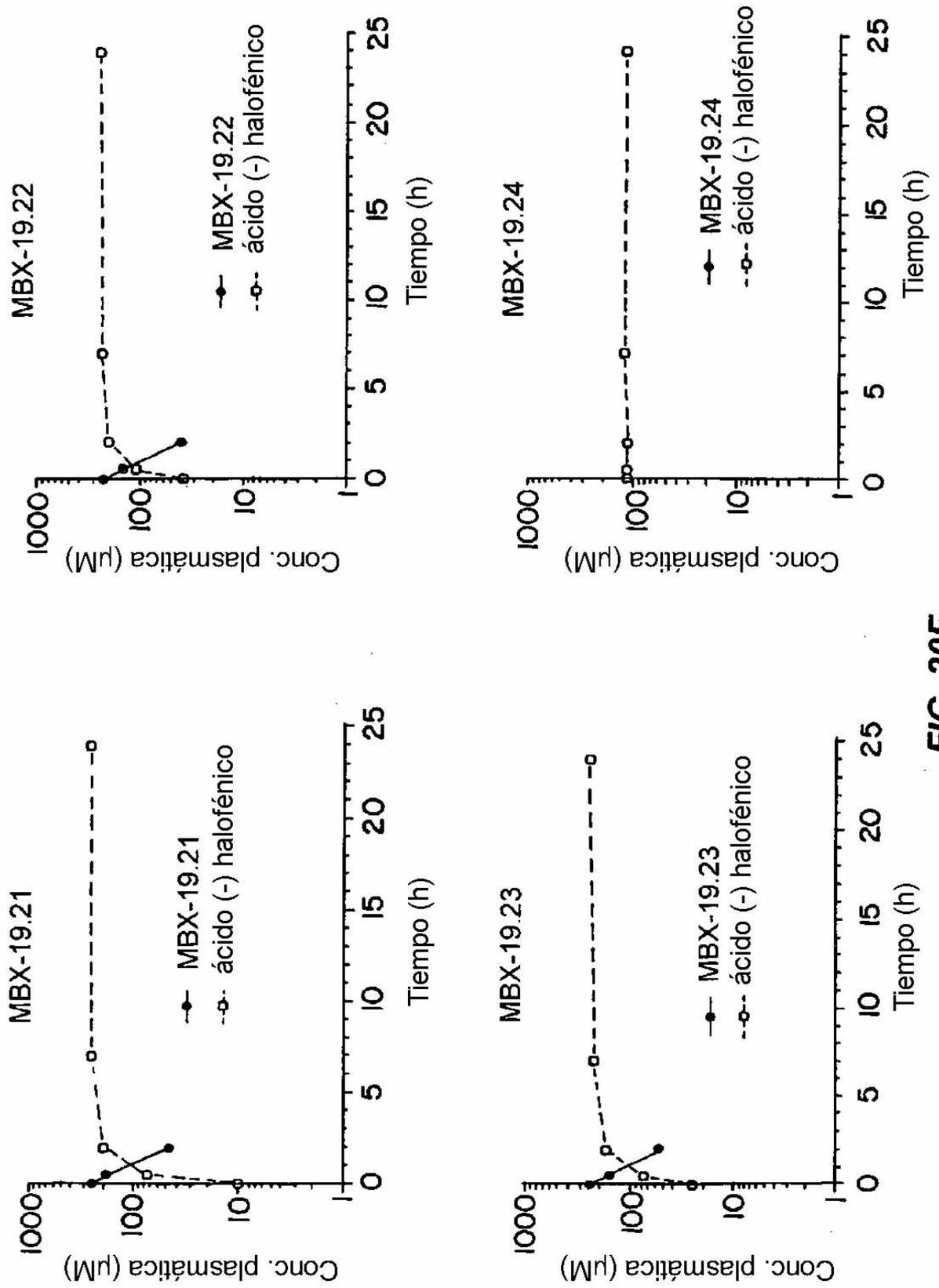


FIG. 20F.

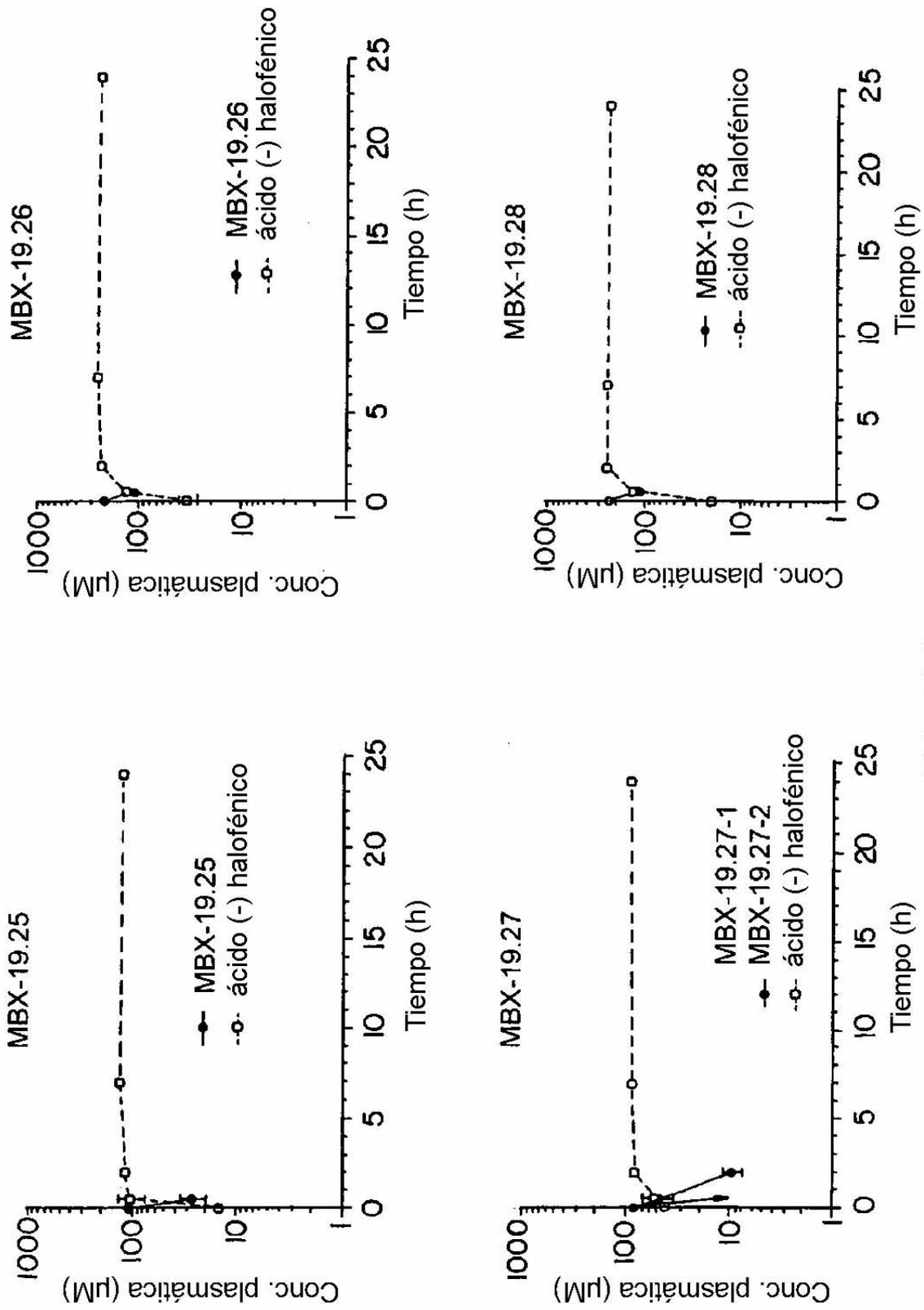


FIG. 20G.