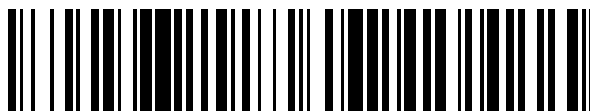


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 435 643**

51 Int. Cl.:

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2010 E 10709039 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013 EP 2405910**

54 Título: **Derivados de rosuvastatina y de atorvastatina**

30 Prioridad:

10.03.2009 GB 0904104

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

20.12.2013

73 Titular/es:

**REDX PHARMA LIMITED (100.0%)
Duncan Building, Royal Liverpool University
Hospital
Liverpool L69 3GA, GB**

72 Inventor/es:

**LINDSAY, DEREK;
JACKSON, PETER;
HINDLEY, STEPHEN y
BHAMRA, INDER**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 435 643 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

Derivados de rosuvastatina y de atorvastatina

5 La presente invención se refiere a nuevos derivados de lactol de rosuvastatina y de atorvastatina.

La rosuvastatina, ácido 7-[4-(4-fluorofenil)-6-(1-metiletil)-2-(metil-metilsulfonil-amino)-pirimidin-5-il]-3,5-dihidroxi-hept-6-enoico, y su uso en la inhibición de la biosíntesis del colesterol se divulgaron por primera vez en el documento EP 0521471. La rosuvastatina es un potente inhibidor de la enzima HMG-CoA.

10 Los compuestos de *trans*-6-[2-(pirrol-1-il(sustituido en 3 o 4 con carboxamido))alquil]-4-hidroxi-piran-2-ona son lactonas que se divulgaron por primera vez en el documento US 4.681.893. Este documento también divulgó sus correspondientes equivalentes de ácido de anillo abierto, es decir, la atorvastatina y sus análogos, que tienen actividad como inhibidores de la HMG-CoA. Sin embargo, los compuestos de lactona, aparentemente, no tienen actividad intrínseca por sí mismos. Los correspondientes equivalentes de ácido de anillo abierto son útiles como inhibidores de la biosíntesis del colesterol debido a su actividad HMG-CoA. También se divulgaron en el documento 15 4.681.893 diversos métodos de fabricación para dichos compuestos.

20 La atorvastatina, que es la forma *R* del ácido de anillo abierto de *trans*-5-(4-fluorofenil)-2-(1-metiletil)-*N*,4-difenil-1-[2-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il)etil]-1*H*-pirrol-3-carboxamida, y su uso en la inhibición de la biosíntesis del colesterol se divulgaron por primera vez en el documento EP 0409281. La atorvastatina, tanto en forma racémica como en forma de su isómero [*R*-(*R**,*R**)] es un potente inhibidor de la enzima HMG-CoA.

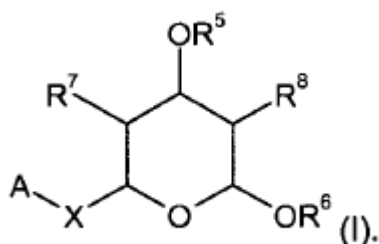
25 *Clin Invest Med*, volumen 24, N° 5, p. 258-72, 2001 (Baker y Tamopolsky), divulga que aunque las estatinas que tienen una configuración abierta de hidroxiaácido son activas, la lactona, el análogo de anillo cerrado, es inactiva. La hidrólisis hepática a pH alcalino descicla y, por consiguiente, activa los profármacos de lactona lovastatina y simvastatina *in vivo* mediante la formación de la especie activa de anillo abierto. Sin embargo, un problema con dichos compuestos es que el extenso metabolismo de primer paso conduce a una rápida eliminación de la estatina de anillo abierto resultante.

30 Del mismo modo, *Trends in Pharmacological Sciences*, Volumen 19, Número 1, 1 de enero de 1998, páginas 26-37 divulga que las lactonas inactivas se deben metabolizar en sus correspondientes formas abiertas de hidroxiaácido con el fin de inhibir la HMG-CoA reductasa.

35 La forma de lactona, y también la forma activa de anillo abierto, también pueden tener problemas en términos de estabilidad durante un período prolongado de tiempo. Esto representa un problema significativo durante la fabricación de un principio activo o durante el almacenamiento prolongado del mismo en una farmacia. Por ejemplo, se puede producir la pérdida del grupo hidroxilo en una reacción de deshidratación. El producto de descomposición resultante puede tener un doble enlace que esté conjugado con el grupo carbonilo de la lactona, y esto tenderá a favorecer el posible producto de descomposición. Igualmente, en la forma de anillo abierto, uno de los posibles productos de descomposición también podría tener un doble enlace conjugado con el grupo carbonilo del ácido.

40 Por lo tanto, es un objetivo de la presente invención proporcionar nuevos derivados de lactol de rosuvastatina y atorvastatina farmacépticamente activos. También es un objetivo proporcionar compuestos que tengan una mejor estabilidad. Lo ideal es que los compuestos tengan una vida útil prolongada. Es un objetivo de la invención proporcionar compuestos que se puedan preparar mediante métodos sintéticos llevados a cabo a escala industrial. También es un objetivo de la invención proporcionar compuestos que se puedan preparar económicamente y de forma fiable. También es un objetivo proporcionar compuestos que tengan una buena solubilidad y/o biodisponibilidad. La presente invención proporciona compuestos que logran uno o más de los objetivos anteriores.

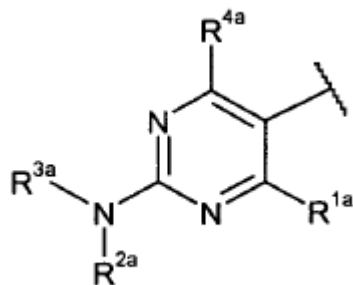
50 De acuerdo con un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I, y sales y solvatos farmacépticamente aceptables del mismo:



donde:

55

A se selecciona del grupo que comprende:



R^{1a} es *i*-propilo, R^{2a} es -S(O)₂Me, R^{3a} es metilo, R^{4a} es 4-fluorofenilo;

- 5 R⁵ se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, arilo, alquil C₁₋₆-arilo, alcanoil C₁₋₆-arilo, heteroarilo, alcanoil C₁₋₆-heteroarilo y alquil C₁₋₆-heteroarilo; siempre con la condición de que tanto R⁵ como R⁶ sean distintos de hidrógeno; y con la condición de que R⁵ no sea bencilo ni H cuando R⁶ sea metilo;
- 10 R⁶ se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C₂₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, arilo, heteroarilo y alquil C₁₋₆-heteroarilo;
- R⁷ y R⁸ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, alquilo C₁₋₄ y halo;
- 15 X es -(CR^aR^b)_m(CR^a=CR^b)_nCR^aR^b-, donde R^a y R^b se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: H, metilo, etilo y halo, y m, n, y o son, independientemente, 0, 1, 2 o 3 con la condición de que m + n + o no sea superior a 3; y donde
- 20 cada uno de los grupos R anteriores puede estar, cuando sea químicamente posible, opcionalmente sustituido, de manera independiente, con de 1 a 5 grupos seleccionados, independientemente en cada aparición, de los grupos que consisten en: halo, alquilo C₁₋₃, haloalquilo d₁₋₃, alcoxi d₁₋₃, haloalcoxi d₁₋₃, hidroxilo y ciano.
- 25 Los compuestos de la invención pueden tener actividad por sí mismos o pueden, en ciertos casos, abrir el anillo en condiciones fisiológicas en los correspondientes compuestos que tienen actividad inhibitoria.
- Se hace referencia a la figura adjunta (Figura 1), que ilustra el efecto sobre el nivel de triglicéridos en plasma en ratas tras la administración de rosuvastatina (25 mg/kg p.o.) y cuatro análogos de rosuvastatina (25 mg/kg).
- 30 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (1) incluyen las sales de adición de ácido y sales de base de los mismos.
- 35 Las sales de adición de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 1,5-naftalendisulfonato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrógenofosfato/dihidrógenofosfato, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.
- 40 Las sales de bases adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y cinc. También se pueden formar hemisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales de hemisulfato y hemicalcio. Para una revisión de las sales adecuadas, véase "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use" de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).
- 45 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (1) se pueden preparar mediante uno o más de tres métodos:
- 50 (i) haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (1) con la base o el ácido deseado;
- (ii) eliminando un grupo protector lábil en medio ácido o básico de un precursor adecuado del compuesto de fórmula (1) o abriendo el anillo de un precursor cíclico adecuado, por ejemplo, una lactona o lactama, usando la base o el ácido deseado; o
- (iii) convirtiendo una sal del compuesto de fórmula (1) en otra mediante reacción con una base o un ácido

apropiado o por medio de una columna de intercambio iónico adecuada.

Por lo general, las tres reacciones se llevan a cabo en solución. La sal resultante puede precipitar y recogerse por filtración o se puede recuperar por evaporación del disolvente. El grado de ionización de la sal resultante puede variar de completamente ionizada a casi no ionizada.

Los compuestos de la invención pueden existir en formas tanto no solvatadas como solvatadas. El término "solvato" se usa en la presente memoria para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una cantidad estequiométrica de una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, etanol. El término "hidrato" se emplea cuando dicho disolvente es agua.

Se incluyen dentro del alcance de la invención complejos tales como clatratos, complejos de inclusión de fármaco-hospedador donde, en contraste con los solvatos mencionados anteriormente, el fármaco y el hospedador están presentes en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. También se incluyen complejos del fármaco que contienen dos o más componentes orgánicos y/o inorgánicos que pueden estar en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. Los complejos resultantes pueden estar ionizados, parcialmente ionizados o no ionizados. Para consultar dichos complejos, véase *J. Pharm Sci*, 64 (8), 1269-1288 por Haleblan (agosto de 1975).

De aquí en adelante, todas las referencias a compuestos de fórmula (1) incluyen referencias a sales, solvatos y complejos de los mismos, y a solvatos y complejos de sales de los mismos.

Los compuestos de la invención incluyen compuestos de fórmula (1) como se definen anteriormente en la presente memoria, incluyendo todos los polimorfos y hábitos cristalinos de los mismos, profármacos e isómeros de los mismos (incluyendo isómeros ópticos, geométricos y tautoméricos) como se definen de aquí en adelante y compuestos marcados isotópicamente de fórmula (1).

Antes de la purificación, los compuestos de la presente invención pueden existir como una mezcla de enantiómeros en función del procedimiento de síntesis usado. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden existir como una mezcla de enantiómeros que tienen una proporción de entre 2:1 y 3:1, aunque también pueden darse en otras proporciones. Los enantiómeros se pueden separar mediante técnicas convencionales conocidas en la materia. Así pues, la invención abarca enantiómeros individuales, así como mezclas de los mismos. Cuando las estructuras químicas divulgadas en la presente memoria incluyen un "*", se pretende que el compuesto sea una mezcla de enantiómeros que tenga una proporción de entre 2:1 y 3:1.

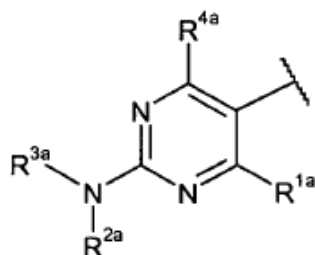
Para algunas de las etapas del proceso de preparación de los compuestos de fórmula (1), puede ser necesario proteger posibles funciones reactivas que no se desee que reaccionen y, como consecuencia, escindir dichos grupos protectores. En ese caso, se puede usar cualquier radical protector compatible. En particular, se pueden usar métodos de protección y desprotección tales como los descritos por T. W. GREENE ("Protective Groups in Organic Synthesis", A. Wiley- Interscience Publication, 1981) o por P. J. Kocienski ("Protecting groups", Georg Thieme Verlag, 1994). Todas las reacciones anteriores y las preparaciones de nuevos materiales de partida usadas en los métodos precedentes son reactivos convencionales y apropiados, y las condiciones de reacción para su realización o preparación, así como los procedimientos para aislar los productos deseados serán bien conocidos por los expertos en la materia con referencia a los antecedentes bibliográficos, y los ejemplos y las preparaciones de los mismos.

Además, los compuestos de fórmula (1), así como los productos intermedios para la preparación de los mismos se pueden purificar de acuerdo con diversos métodos bien conocidos tales como, por ejemplo, cristalización o cromatografía.

Los presentes inventores han descubierto que los compuestos de la invención disfrutan de una buena actividad como inhibidores de la HMG-CoA. Los compuestos son poco solubles en agua y, por tanto, están disponibles para el metabolismo. En este sentido, a pesar de la presencia de un grupo voluminoso en la posición 2 del derivado de lactol, los compuestos se seguirán metabolizando mediante la pérdida del grupo sustituyente, la oxidación y la posterior apertura del anillo para formar inhibidores de la HMG-CoA. Además, los compuestos tienen actividad intrínseca por sí solos. Ambos hallazgos son inesperados y contradictorios. Por lo tanto, se espera que los compuestos muestren un perfil de liberación más estable *in vivo*. También se espera que los compuestos puedan tener una semivida más larga y/o una duración prolongada de la acción. Esto es sorprendente, porque no se espera que este tipo de compuestos de anillo cerrado tengan actividad en absoluto. Por otra parte, cabría esperar que la presencia de un grupo sustituyente fuera una barrera a la oxidación y la posterior transformación en un compuesto activo útil mediante la apertura del anillo.

En una realización, R⁶ se selecciona del grupo que comprende: alquilo C₂₋₆, alquenilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, arilo, heteroarilo y alquil C₁₋₆-heteroarilo.

En una realización, A es:



5 En una realización, R⁵ se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo, alquil C₁₋₄-arilo, alcanoil C₁₋₆-arilo, heteroarilo, alcanoil C₁₋₆-heteroarilo y alquil C₁₋₄-heteroarilo. En una realización, R⁵ se selecciona del grupo que consiste en: hidrógeno, alquil C₁₋₄-arilo y alquil C₁₋₄-heteroarilo. En una realización, R⁵ es alquil C₁₋₄-arilo. En una realización, R⁵ es alcanoil C₁₋₆-heteroarilo, por ejemplo, metanoil-heteroarilo. En una realización preferida, R⁵ es metanoil-piridilo, por ejemplo, 2-metanolil-piridina, 3-metanolil-piridina o 4-metanolil-piridina, preferentemente 3-metanolil-piridina. En una realización, R⁵ es hidrógeno. En una realización alternativa, R⁵ es bencilo.

10 En una realización, R⁶ se selecciona del grupo que consiste en: alquilo C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ y arilo opcionalmente sustituido.

En una realización, R⁶ es alquilo C₂₋₆. En una realización, R⁶ es etilo, propilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, butilo, *sec*-butilo, *iso*-butilo o *terc*-butilo. En una realización, R⁶ es *iso*-propilo o *terc*-butilo.

15 En una realización, R⁶ es cicloalquilo C₃₋₆. En una realización preferida, R⁶ es ciclohexilo.

En una realización, R⁶ es haloalquilo C₁₋₆, por ejemplo, un cloroalquilo C₁₋₆. En una realización, R⁶ es cloroetilo.

20 En una realización, R⁶ es alqueno C₂₋₆. En una realización, R⁶ es prop-2-eno.

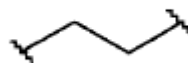
En una realización, R⁶ es arilo opcionalmente sustituido. En una realización, R⁶ es 2,4,6-trifluorofenilo o 2,4-dimetoxifenilo.

25 En una realización, R⁷ es H.

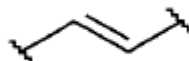
En una realización, R⁸ es H.

30 En una realización, m = 0, n = 1 y o = 0. En una realización, m = 1, n = 1 y o = 0 o m = 0, n = 1 y o = 1. En una realización, n es 0. En una realización, m = 1, n = 0 y o = 1; m = 2, n = 0 y o = 0; o m = 0, n = 0 y o = 2. En una realización alternativa, m = 3, n = 0 y o = 0. En una realización alternativa, m = 1, n = 0 y o = 0.

En una realización preferida, X es



En una realización alternativa preferida, X es



35 En una realización, R^a es H en cada aparición.

En una realización, R^b es H en cada aparición.

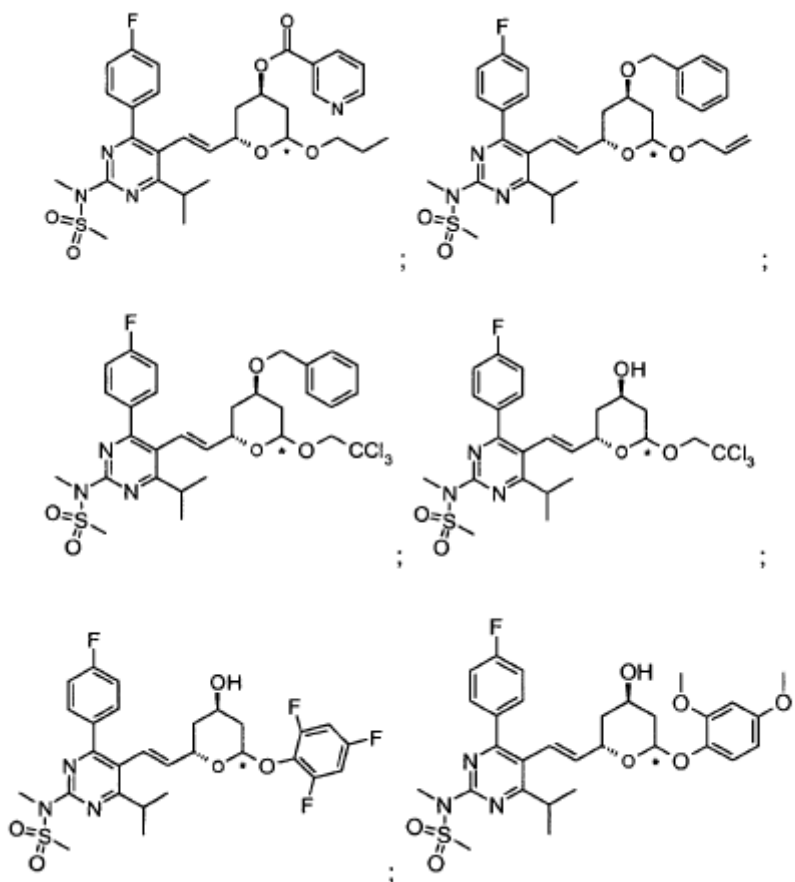
40 Preferentemente, cuando uno o más de los grupos anteriores están sustituidos, cada sustituyente opcional es un átomo de halógeno seleccionado independientemente. Entre los halógenos, se prefieren el cloro y el flúor.

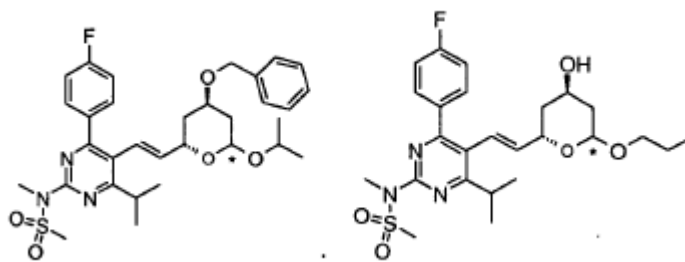
R^{1a} es *i*-propilo; R^{2a} es -S(O)₂R^{9a}, donde R^{9a} es metilo; R^{3a} es metilo; y R^{4a} es 4-fluorofenilo.

45 En una realización, R⁵ es hidrógeno o bencilo opcionalmente sustituido; y R⁶ es alquilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido, preferentemente propilo o butilo, o alqueno C₂₋₆ opcionalmente sustituido, preferentemente prop-2-eno. En una realización preferida, R⁵ es bencilo y R⁶ es alquilo C₂₋₆, preferentemente propilo, *iso*-propilo, butilo, *iso*-butilo o *terc*-

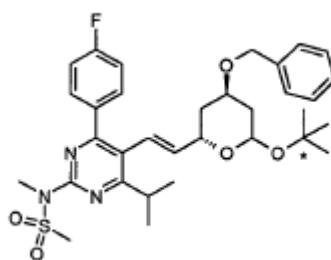
- butilo. En una realización preferida, R⁵ es bencilo y R⁶ es alqueno C₂₋₆, preferentemente prop-2-eno. En una realización preferida, R⁵ es bencilo y R⁶ es haloalquilo C₂₋₆, preferentemente 2,2,2-tricloroetil. En una realización preferida, R⁵ es hidrógeno; y R⁶ es arilo opcionalmente sustituido, preferentemente 2,4,6-trifluorofenilo o 2,4-dimetoxifenilo. En una realización preferida, R⁵ es hidrógeno y R⁶ es alquilo C₂₋₆, preferentemente *n*-propilo. En una realización preferida, R⁵ es hidrógeno y R⁶ es cicloalquilo C₃₋₆, preferentemente ciclohexilo. En una realización preferida, R⁵ es hidrógeno; y R⁶ es haloalquilo C₂₋₆, preferentemente cloroetil. En otra realización preferida, R⁵ es metanolil-piridilo, por ejemplo, 2-metanolil-piridina, 3-metanolil-piridina o 4-metanolil-piridina, preferentemente 3-metanolil-piridina y R⁶ es alquilo C₂₋₆, preferentemente, etilo o propilo.
- 10 Los grupos arilo incluyen sistemas de anillos aromáticos que comprenden 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 átomos de carbono en el anillo. Los grupos arilo pueden consistir en un solo anillo, pero pueden incluir un sistema de anillos policíclico que tenga dos o más anillos, al menos uno de los cuales sea aromático. Los grupos arilo incluyen: grupos fenilo, naftilo, fluorenilo, azulenilo, indenilo y antrilo.
- 15 En una realización, el grupo arilo es fenilo.
- Los grupos heteroarilo incluyen sistemas de anillos heterocíclicos aromáticos que tienen 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 átomos en el anillo con 1 a 4 heteroátomos seleccionados independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre. El grupo puede ser un sistema de anillos policíclico que tenga dos o más anillos, al menos uno de los cuales sea aromático, pero lo más habitual es que sea monocíclico. Los grupos heteroarilo preferidos son grupos monocíclicos que contienen 5 o 6 átomos en el anillo. Los grupos heteroarilo incluyen: pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, pirazinilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, furilo, tiofenilo, piridilo, pirimidilo, bencimidazolilo, indolilo, isoquinolilo, quinoxalinilo y quinolilo.
- 20
- 25 En una realización, el grupo heteroarilo se selecciona del grupo que comprende: piridina, pirimidina, pirazina, pirazol, y oxazol. Preferiblemente, el grupo heteroarilo es piridina.

En una realización, el compuesto tiene una estructura seleccionada de entre:





y



5 Los procesos para la fabricación de los compuestos de la presente invención se describen en el documento WO2005/012246, en particular, en los ejemplos. La divulgación del documento WO2005/012246, en lo que se refiere a los procedimientos sintéticos, forma parte de la divulgación de la presente invención. En aras de la brevedad, los detalles de estos procedimientos de síntesis no se reproducen en la presente memoria, pero se pretende que este tema se encuentre incorporado específicamente en la divulgación del presente documento por referencia.

10 Además de los aspectos anteriores, la presente invención también se puede referir al uso de los derivados de lactol de rosuvastatina y atorvastatina en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de ciertas afecciones. Las afecciones que se pueden tratar usando los compuestos de la presente invención incluyen las afecciones que son moduladas por la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa). Por lo tanto, la inhibición de la enzima representa una terapia viable para una serie de enfermedades.

15 Los ejemplos de afecciones que se pueden tratar mediante la inhibición de la HMG-CoA reductasa incluyen hipercolesterolemia, aterosclerosis e hiperlipidemia. Las estatinas se han usado en la prevención secundaria de la enfermedad cardiovascular, o en la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular cuando el riesgo de enfermedad cardiovascular se eleva significativamente. Por lo tanto, se espera que los compuestos de la presente
 20 invención tengan utilidad en el tratamiento o la prevención de las enfermedades cardiovasculares debido a su actividad inhibidora. Las enfermedades cardiovasculares ilustrativas que se pueden tratar mediante los compuestos de la presente invención incluyen: enfermedad cardíaca coronaria, infarto de miocardio, apoplejía y enfermedad arterial periférica. Además, estos compuestos también pueden tener un efecto beneficioso en el tratamiento de la inflamación, la demencia, el cáncer, las cataratas nucleares, la diabetes y la hipertensión.

25 Las afecciones que se pueden tratar mediante la inhibición de la HMG-CoA reductasa pueden ser una afección del cuerpo humano o animal. Estos compuestos están destinados, en particular, a pacientes humanos.

30 Los derivados de atorvastatina de la presente invención se pueden analizar usando el siguiente procedimiento en el que se mide el nivel de triglicéridos en plasma después de tratar a una rata con un compuesto de la presente invención (o atorvastatina). El cambio en los niveles de triglicéridos en plasma de la rata se considera que es una prueba adecuada para determinar la actividad de la HMG CoA reductasa.

35 El procedimiento usado es el siguiente: se alojan ratas SD macho (Harlan) en grupos de 6, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 h (luces se encienden a las 7.00 h) con acceso libre a comida (pienso normal de laboratorio) y agua. Los animales de entre 148-183 g se asignan a grupos de tratamiento de 8 equilibrados por el peso corporal, y se equilibran los tratamientos entre las jaulas.

40 Se preparan soluciones que incluyen 5 mg/ml de los análogos de la atorvastatina (por ejemplo, PEG300 al 10%/cremofor al 10%/metilcelulosa al 80% (0,5%)) y una suspensión que incluye 5 mg/kg de atorvastatina (formulada en Tween al 0,5% en metilcelulosa al 0,5%).

45 Se administra a las ratas por vía oral uno de los análogos de atorvastatina (25 mg/kg) o atorvastatina (25 mg/kg p.o.) dos veces al día durante 3 o 5 días.

Dieciséis horas después del último tratamiento, se toman muestras de plasma terminales, se almacenan a -20 °C, y se transportan en hielo seco para el análisis de los niveles de triglicéridos.

Los datos para cada punto temporal se analizan por ANOVA de una vía y el ensayo post hoc de Dunnett.

La presente invención también incluye la síntesis de todos los compuestos marcados isotópicamente farmacéuticamente aceptables de fórmula (I), donde uno o más átomos se reemplazan por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o del número másico normalmente encontrado en la naturaleza.

Los ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno tales como ^2H y ^3H , de carbono tales como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , de cloro tales como ^{36}Cl , de flúor tales como ^{18}F , de yodo tales como ^{123}I y ^{125}I , de nitrógeno tales como ^{13}N y ^{15}N , de oxígeno tales como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , de fósforo tales como ^{32}P , y de azufre tales como ^{35}S .

Ciertos compuestos marcados isotópicamente, por ejemplo, los que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en estudios de distribución en tejidos de fármacos y/o sustratos. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ^3H , y carbono-14, es decir, ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y medios rápidos de detección.

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

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

En general, los compuestos marcados isotópicamente se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos usando un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar del reactivo no marcado empleado previamente.

A lo largo de la descripción y de las reivindicaciones de la presente memoria descriptiva, la forma en singular engloba la forma en plural a menos que el contexto requiera lo contrario. En particular, cuando se usa el artículo indefinido, se ha de entender que la memoria descriptiva contempla la pluralidad así como la singularidad, a menos que el contexto requiera lo contrario.

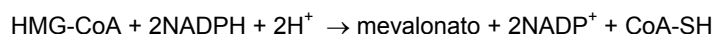
Se ha de entender que los rasgos distintivos, los números enteros, las características, los compuestos, los restos químicos o los grupos descritos junto con un determinado aspecto, realización o ejemplo de la invención son aplicables a cualquier otro aspecto, realización o ejemplo descritos en la presente memoria a menos que sean incompatibles con el mismo.

Procedimiento general

Todos los ensayos se llevaron a cabo en un tampón de reacción que contenía K_2PO_4 100 nM a pH 7,2, EDTA 1 mM, KCl 500 mM y 1 mg/ml de ASB. Ambas concentraciones de NADPH y de HMG-CoA fueron 200 μM . Se desconoce la concentración de la enzima usada, aunque esta concentración es 10 veces inferior a la de la solución madre adquirida comercialmente. Los inhibidores se disolvieron en DMSO al 75 %. Cuando los inhibidores resultaron ser insolubles o solo parcialmente solubles en DMSO al 75 %, se usó DMSO al 100 %. Las reacciones se activaron mediante la adición de enzima y se agitaron durante 12 segundos después de la adición. Las lecturas de absorbancia fueron tomadas cada 20 segundos durante 600 segundos. En las pruebas iniciales, la concentración de cada inhibidor se fijó en 50 nM para identificar qué compuestos eran los mejores inhibidores en comparación con el inhibidor de pravastatina conocido. Tras identificarlos, los ensayos se llevaron a cabo variando sus concentraciones de 0 nM a 50 nM, permitiendo el cálculo de los valores de CI_{50} .

Ejemplo 1

El siguiente procedimiento se siguió usando un kit de ensayo de HMG-CoA reductasa obtenido de Sigma-Aldrich (número de catálogo CS1090). El ensayo se basa en la medición espectrofotométrica de la disminución de la absorbancia a 340 nm en solución de NADPH. Una disminución en la absorbancia es causada por la oxidación de NADPH por la subunidad catalítica de HMGR en presencia del sustrato de la HMG-CoA. La inhibición eficaz de la HMG-CoA conduce a una reducción de la oxidación de NADPH que, a su vez, conduce a una menor reducción de la absorbancia a 340 nm a lo largo del tiempo. Esto se ilustra en el siguiente esquema de reacción:



Los compuestos que muestran la mejor acción inhibitoria son los que menos reducen la absorbancia.

Preparación de la solución de ensayo

Se usó agua ultrapura (17 MΩ-cm o equivalente) para la preparación de los reactivos y durante todo el procedimiento.

5 En primer lugar, se preparó una solución tampón de ensayo usando el siguiente método: se diluyeron 0,2 ml de tampón de ensayo, 5 x (número de catálogo A5981) con 0,8 ml de agua ultrapura. La solución tampón resultante se mantuvo en hielo o se almacenó a -20 °C para su posterior uso.

10 A continuación, se reconstituyeron 25 mg de NADPH (número de catálogo N6505) con 1,5 ml de la solución tampón. La NADPH reconstituida se almacenó en alícuotas de trabajo a -20 °C.

15 La solución de sustrato de HMG-CoA (número de catálogo S7447), la HMG-CoA reductasa (número de catálogo H8789) y la solución de inhibidor (por ejemplo, pravastatina, número de catálogo 15909) se mantuvieron en hielo durante todo el procedimiento.

1. Antes de comenzar, se ajustó el espectrofotómetro a 37 °C y 340 nm, con un programa de cinética: 1 ml de muestra, lectura cada 20 segundos hasta 10 minutos.

2. Los volúmenes adecuados de las soluciones de reacción se añadieron de acuerdo con la Tabla 1 (ensayo de 1 ml).

20

Tabla 1

Volúmenes de reacción para muestras de 1 ml					
Muestra	1 x tampón de ensayo	compuesto de ensayo/ Pravastatina	NADPH	HMG-CoA	HMG
Blanco	920 µl	-	20 µl	60 µl	-
Actividad	915 µl	-	20 µl	60 µl	5 µl
Inhibición	910 µl	5 µl	20 µl	60 µl	5 µl

Los reactivos se añadieron a la reacción en el siguiente orden:

- 25 a. Se añade un tampón a todas las muestras.
 b. Se añade el inhibidor (compuesto de ensayo/pravastatina) a la muestra de inhibición.
 c. Se añade NADPH reconstituida a todas las muestras.
 d. Se añade solución de sustrato (HMG-CoA) a todas las muestras.
 e. Se añade HMG-CoA reductasa (HMGR) a las muestras de actividad y de inhibición.
 30 f. Se mezclan las muestras a fondo.

3. Se inició el programa de cinética de inmediato. La actividad del producto se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Unidades/mg de P} = \frac{(\Delta A_{340}/\text{min}_{\text{muestra}} - \Delta A_{340}/\text{min}_{\text{control}}) \times VT}{12,44 \times V \times 0,6 \times PL}$$

12,44 x V x 0,6 x PL

35 donde:

12,44 = ϵ^{mM} - el coeficiente de extinción para NADPH a 340 nm es 6,22 mM⁻¹cm⁻¹. 12,44 representa la 2 NADPH que se consume en la reacción;

VT = volumen total de la reacción en ml (1 ml para las cubetas);

40 V = volumen de enzima usado en el ensayo (ml);

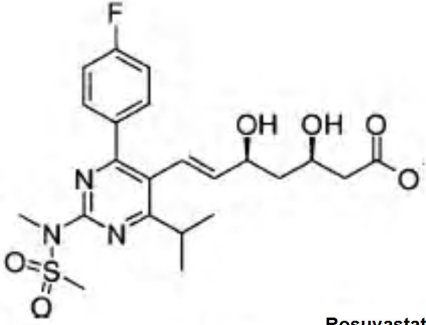
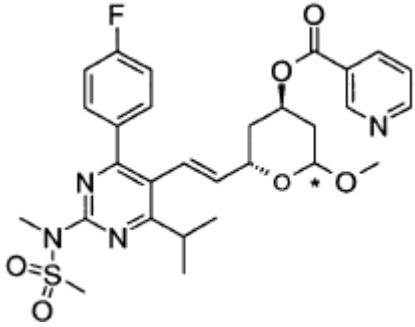
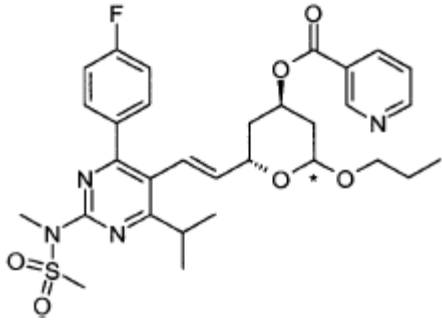
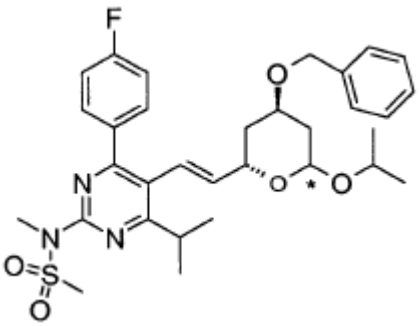
0,6 = concentración de la enzima en mg de proteína (mg de P0/ml (0,55-0,65 mg de P/ml);

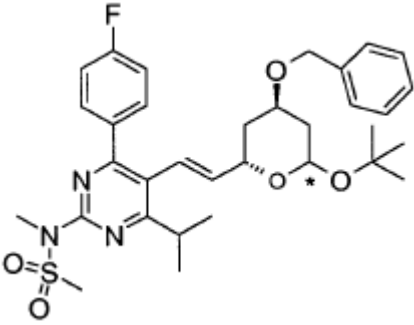
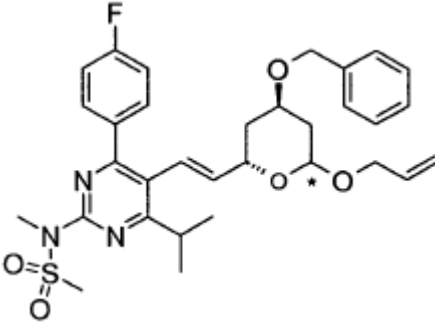
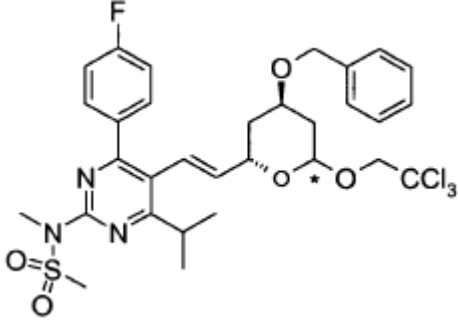
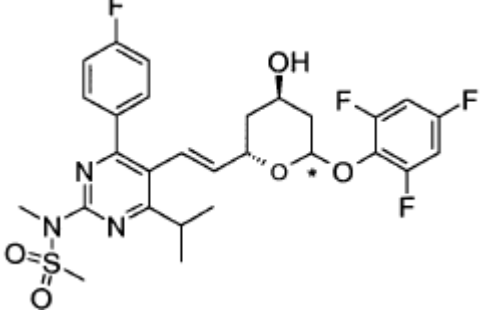
PL = paso de luz en cm (1 para las cubetas).

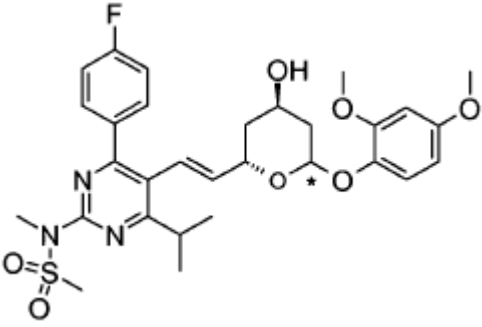
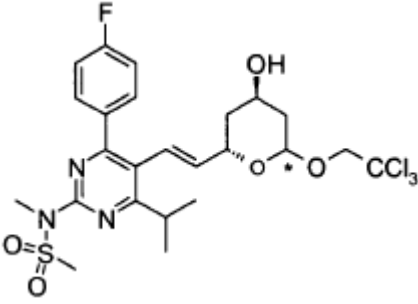
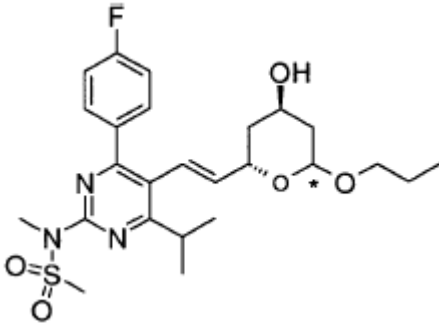
Ejemplo 2

45

La siguiente tabla proporciona los valores de CI₅₀ para los compuestos particulares de rosuvastatina de la presente invención.

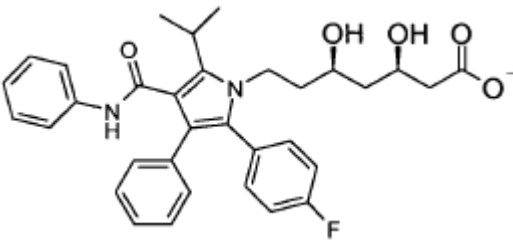
Estructura del compuesto	Cl ₅₀ (nM)
 <p style="text-align: center;">Rosuvastatina Sal de Ca²⁺</p>	4
	< 1
	8
	1

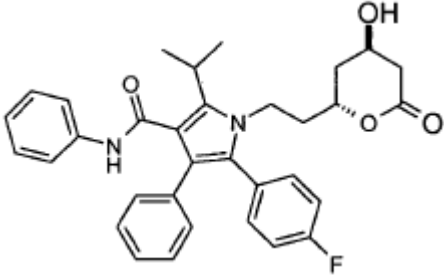
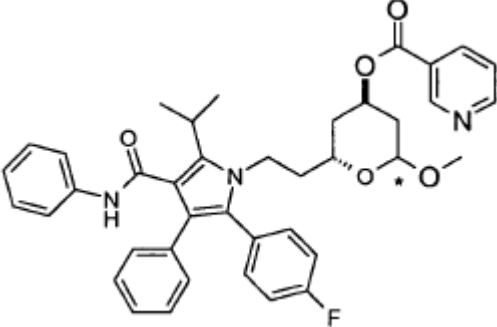
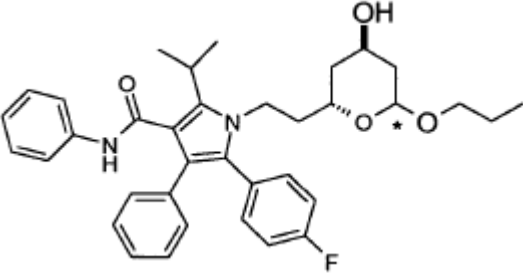
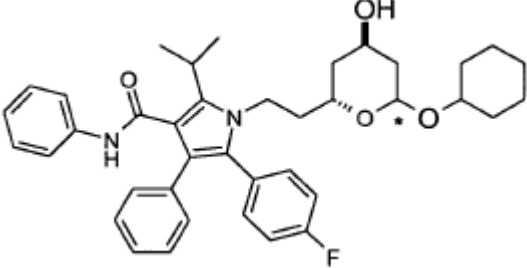
Estructura del compuesto	Cl ₅₀ (nM)
	4
	3
	2
	1

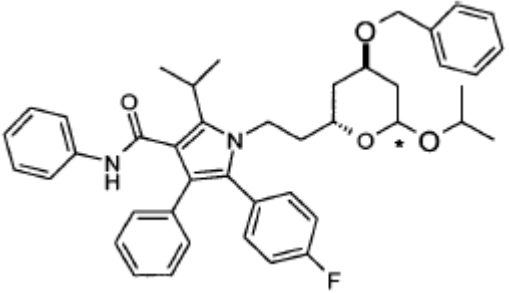
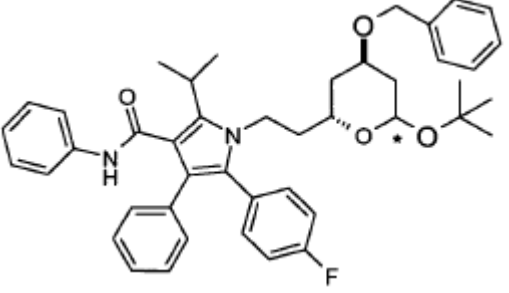
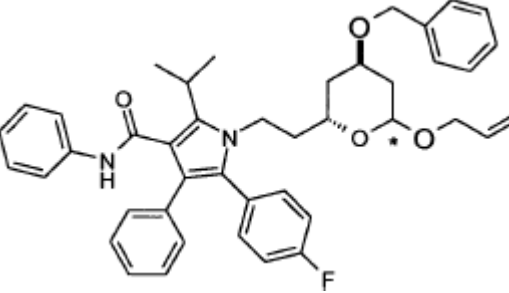
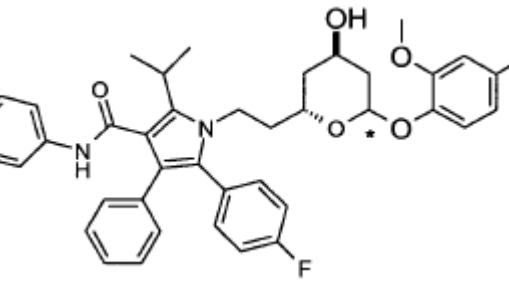
Estructura del compuesto	Cl ₅₀ (nM)
	2
	2
	10

Ejemplo de referencia 3

5 La siguiente tabla proporciona los valores de Cl₅₀ para los compuestos particulares de atorvastatina.

Estructura del compuesto	Cl ₅₀ (nM)
 <p data-bbox="587 1935 911 1973">Sal de Ca²⁺ de atorvastatina</p>	7

Estructura del compuesto	Cl ₅₀ (nM)
 <p>The structure shows a central indazole ring system. At position 2, there is a benzamide group (-NH-C(=O)-C₆H₅). At position 3, there is a phenyl ring. At position 4, there is a 4-fluorophenyl ring. At position 5, there is a 2-methylpropyl group. At position 7, there is a propyl chain attached to a 2-hydroxy-1,3-dioxane ring.</p>	3
 <p>The structure is similar to the first one, but the side chain at position 7 is a propyl chain attached to a 2-methoxy-1,3-dioxane ring, which is further substituted with a pyridine-2-ylmethyl group.</p>	<1
 <p>The structure is similar to the first one, but the side chain at position 7 is a propyl chain attached to a 2-propoxy-1,3-dioxane ring.</p>	<1
 <p>The structure is similar to the first one, but the side chain at position 7 is a propyl chain attached to a 2-cyclohexyloxy-1,3-dioxane ring.</p>	<1

Estructura del compuesto	Cl ₅₀ (nM)
	4
	3
	1
	< 1

Ejemplo 4

- 5 El siguiente ejemplo demuestra la eficacia de los compuestos de rosvastatina de la invención. El Ejemplo demuestra el efecto de 3 o 5 días de tratamiento dos veces al día con cuatro compuestos de rosvastatina de la presente invención y rosvastatina (todos a 25 mg/kg p.o.) sobre los niveles de triglicéridos en plasma de ratas 16 horas después de la última dosis de tratamiento. La medición del cambio en los niveles de triglicéridos en plasma de las ratas se considera que es una prueba adecuada para determinar la actividad de la HMG CoA reductasa.

10 Se alojaron 112 ratas SD macho (Harlan) en grupos de 6, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 h (lucos se encienden a las 7.00 h) con acceso libre a comida (pienso normal de laboratorio) y agua. Los animales de entre 148-183 g se

asignaron a grupos de tratamiento de 8 equilibrados por el peso corporal, y se equilibraron los tratamientos entre las jaulas.

5 Se prepararon cuatro análogos de rosuvastatina en PEG300 al 10 %/cremofor al 10 %/metilcelulosa al 80 % (0,5 %) (vehículo 1) para hacer una solución de 5 mg/ml. Los compuestos de rosuvastatina usados fueron:

Lactol de rosuvastatina *n*-propil acetal (proporción diastereomérica 2/1) (BPL001);

10 Lactol de rosuvastatina *n*-propil acetal nicotinoil éster (proporción diastereomérica 2/1) (BPL002);
Lactol de rosuvastatina *iso*-propil acetal bencil éter (BPL003); y
Lactol de rosuvastatina metil acetal nicotinoil éster (proporción diastereomérica 2/1) (BPL004).

15 La rosuvastatina se formuló en Tween al 0,5 % en metilcelulosa al 0,5 % (vehículo 2) a 5 mg/kg como una suspensión.

Se administró vehículo 1 a las ratas por vía oral, uno de los cuatro análogos de rosuvastatina en vehículo 1 (25 mg/kg), vehículo 2 o rosuvastatina en vehículo 2 (25 mg/kg p.o.), dos veces al día durante 3 o 5 días.

20 Dieciséis horas después del último tratamiento, se tomaron muestras de plasma terminales, se almacenaron a -20 °C, y se transportan en hielo seco para el análisis de los niveles de triglicéridos.

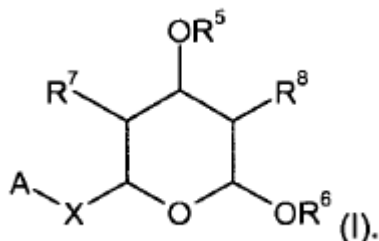
Los datos para cada punto temporal se analizaron por ANOVA de una vía y el ensayo post hoc de Dunnett.

25 Los resultados se proporcionan en la Figura 1, de la que se puede deducir que la administración de rosuvastatina (25 mg/kg p.o.) dos veces al día durante 3 o 5 días causa una notable reducción de los triglicéridos en plasma. Los cuatro análogos de rosuvastatina también redujeron significativamente los triglicéridos en plasma después del tratamiento de dos veces al día de duración tanto de 3 como de 5 días. Todos los animales toleraron los tratamientos de rosuvastatina bien, y no hubo pruebas de ningún hecho adverso.

30 La magnitud del efecto de los análogos de rosuvastatina fue equivalente a la de la rosuvastatina.

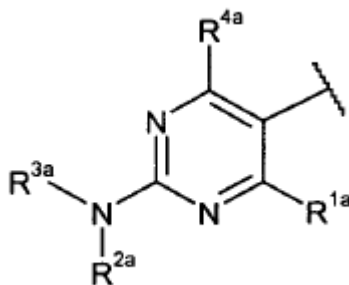
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I, y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo:



5 donde:

A es:



10 donde R^{1a} es *i*-propilo, R^{2a} es -S(O)₂Me, R^{3a} es metilo y R^{4a} es 4-fluorofenilo;
 R⁵ es seleccionado del grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆,
 cicloalquilo C₃₋₆, arilo, alquil C₁₋₆-arilo, alcanoil C₁₋₆-arilo, heteroarilo, alcanoil C₁₋₆-heteroarilo y alquil C₁₋₆-
 heteroarilo; siempre con la condición de que tanto R⁵ como R⁶ sean distintos de hidrógeno; y con la condición
 15 de que R⁵ no sea bencilo ni H cuando R⁶ sea metilo;
 R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en: alquilo C₂₋₆, alquenilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, arilo, heteroarilo y
 alquil C₁₋₆-heteroarilo;
 R⁷ y R⁸ son seleccionados independientemente del grupo que consiste en: H, alquilo C₁₋₄ y halo;
 X es -(CR^aR^b)_m(CR^a=CR^b)_nCR^aR^b-, donde R^a y R^b son seleccionados independientemente del grupo que
 20 + n + o no sea superior a 3; y donde
 cada uno de los grupos R anteriores pueden estar, cuando sea químicamente posible, opcionalmente
 sustituidos, de manera independiente, con de 1 a 5 grupos seleccionados independientemente en cada
 aparición de los grupos que consisten en: halo, alquilo C₁₋₃, haloalquilo d₁₋₃, alcoxi d₁₋₃, haloalcoxi d₁₋₃, hidroxí
 y ciano.

25 2. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R⁵ es seleccionado del grupo que consiste en:

hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo, alquil C₁₋₆-arilo, alcanoil C₁₋₆-arilo, heteroarilo, alcanoil C₁₋₆-heteroarilo y alquil
 C₁₋₆-heteroarilo.

30 3. Un compuesto de la reivindicación 2, donde R⁵ es hidrógeno.

4. Un compuesto de la reivindicación 2, donde R⁵ es seleccionado del grupo que consiste en: -alquil C₁-Ph, -alquil
 C₂-Ph, -alquil C₃-Ph y -alquil C₄-Ph; opcionalmente donde R⁵ es bencilo.

35 5. Un compuesto de la reivindicación 2, donde R⁵ es alcanoil C₁₋₆-piridina; opcionalmente donde R⁵ es 3-metanoil-
 piridina.

40 6. Un compuesto de cualquier reivindicación anterior, donde R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en: alquilo
 C₂₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, arilo, heteroarilo y alquil C₁₋₆-heteroarilo.

7. Un compuesto de la reivindicación 6, donde R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en: alquilo C₂₋₆, haloalquilo
 C₁₋₆ y alquenilo C₂₋₆; opcionalmente donde R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en: etilo, propilo, butilo,
 clorometilo, cloroetilo, cloropropilo, clorobutilo y propileno.

8. Un compuesto de la reivindicación 6, donde R⁶ es arilo opcionalmente sustituido; opcionalmente donde R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en: fenilo sustituido con alcoxi C₁₋₆ y fenilo sustituido con halo; opcionalmente donde R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en:

5 2,4,6-trifluorofenilo y 2,4-dimetoxifenilo.

9. Un compuesto de la reivindicación 6, donde R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en alquilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alqueno C₂₋₆ y arilo; opcionalmente donde R⁶ es seleccionado del grupo que consiste en etilo, propilo, butilo, ciclohexilo y alilo.

10 10. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R⁵ es hidrógeno y R⁶ es un grupo aromático opcionalmente sustituido.

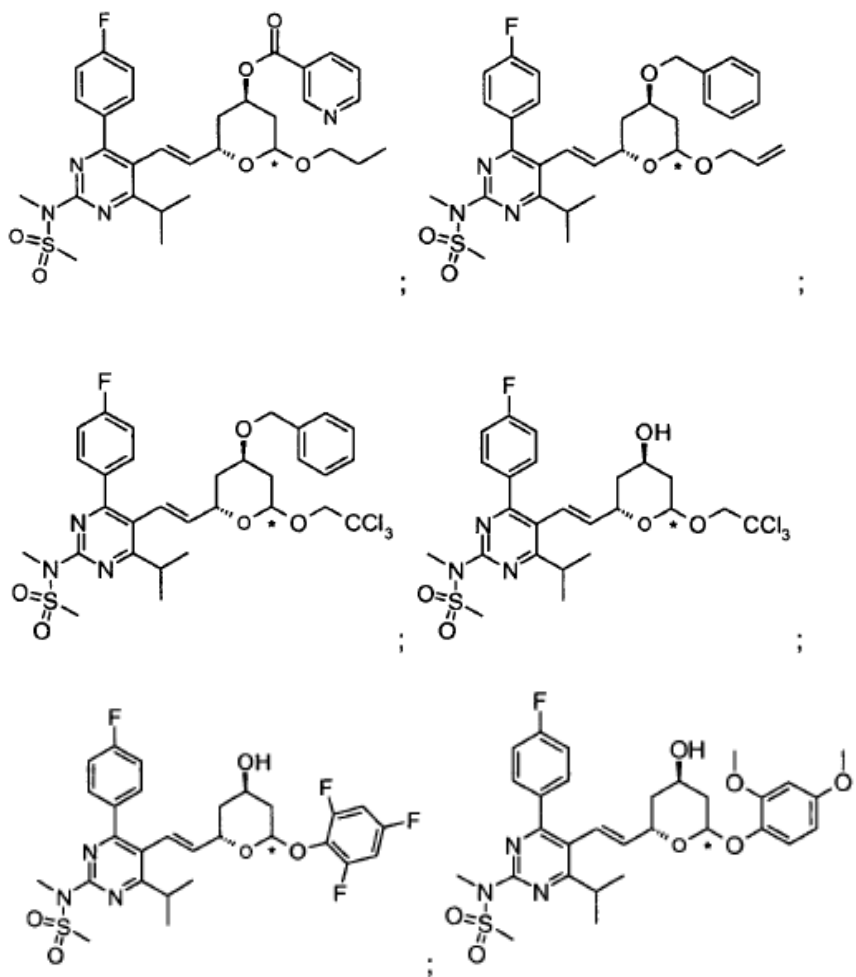
15 11. Un compuesto de la reivindicación 1, donde R⁵ es un bencilo opcionalmente sustituido y R⁶ es un alquilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido, un alqueno C₂₋₆ opcionalmente sustituido o un haloalquilo C₁₋₆, donde R⁵ es un alcooil C₁₋₆-heteroarilo y R⁶ es un alquilo C₂₋₆ opcionalmente sustituido, o donde R⁵ es hidrógeno y R⁶ es un alquilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o un arilo opcionalmente sustituido.

20 12. Un compuesto de cualquier reivindicación anterior, donde R⁷ es H y R⁸ es H.

13. Un compuesto de cualquier reivindicación anterior, donde R^a es H, R^b es H y m = 0, n = 1 y o = 0.

14. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, donde cada R^a es H, cada R^b es H y m = 2, n = 0 y o = 0.

25 15. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene una estructura seleccionada de entre:



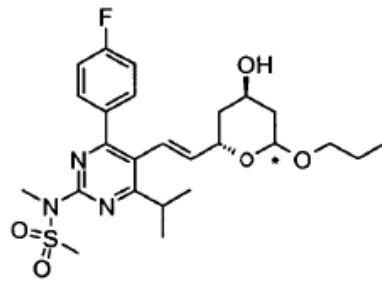
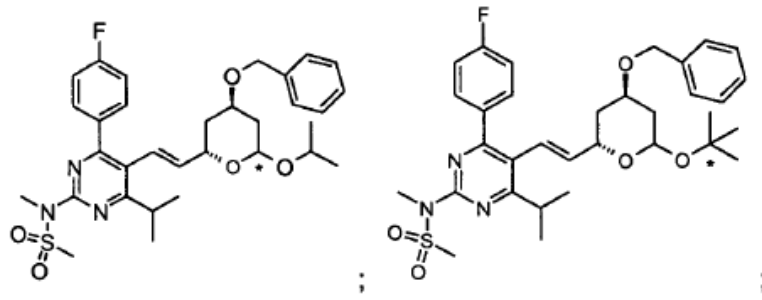


Figura 1

