

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 039**

51 Int. Cl.:

A61K 31/41 (2006.01)

A01N 43/64 (2006.01)

A61P 19/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2009 E 09739797 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2282736**

54 Título: **Compuestos tetrazol para reducir el ácido úrico**

30 Prioridad:

30.04.2008 US 49167

03.09.2008 US 93743

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

24.02.2016

73 Titular/es:

WELLSTAT THERAPEUTICS CORPORATION

(100.0%)

930 Clopper Road

Gaithersburg, MD 20878, US

72 Inventor/es:

O'NEIL, JAMES DENNEN;

SHARMA, SHALINI y

ARUDCHANDRAN, RAMACHANDRAN

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 561 039 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

Compuestos tetrazol para reducir el ácido úrico

5

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0001] Las enfermedades causadas por niveles elevados de ácido úrico están dentro de dos categorías principales: trastornos causados por precipitación de cristales de ácido úrico y enfermedades relacionadas con los efectos patológicos del ácido úrico soluble. La artritis gotosa es el ejemplo clásico de lo anterior. El depósito de cristales de urato en el riñón también es una causa común de disfunción renal. Los niveles elevados de ácido úrico se asocian con diversos trastornos, incluidas enfermedades cardiovasculares y renales.

10

[0002] La gota se manifiesta con mayor frecuencia como inflamación de una o más de las articulaciones del organismo que tiene como resultado dolor leve a intenso. Estos acontecimientos pueden ser episódicos y/o crónicos. Con el tiempo, la gota puede dar lugar a la destrucción del cartílago y del hueso, desarrollo de depósitos de cristales de ácido úrico, dolor y disfunción renal, así como cálculos renales. La gota también puede afectar a otros órganos.

15

[0003] La gota está causada por hiperuricemia y la consecuente formación y depósito de cristales de ácido úrico en los tejidos, articulaciones, riñones y otros órganos. El ácido úrico procede del metabolismo celular normal y de algunos tipos de alimentos y bebidas. Los niveles excesivos de ácido úrico son el resultado de una producción excesiva de ácido úrico, aclaramiento insuficiente por los riñones (o una combinación de exceso de producción y aclaramiento insuficiente) y también de algunos medicamentos que se toman para otras enfermedades (son ejemplos los diuréticos, pirazinamida, ciclosporina, ácido acetilsalicílico a dosis bajas, ácido nicotínico y levodopa). Muchos tipos de enfermedades también pueden contribuir a la hiperuricemia y a la gota, como alcoholismo, leucemia, linfoma, cáncer de pulmón, síndrome de lisis tumoral, tabaquismo, psoriasis, obesidad, disfunción renal, insuficiencia cardíaca congestiva, inanición, anemia, hipertensión, diabetes, inmovilidad, síndrome de Lesch-Nyhan, síndrome de Down y disfunciones tiroideas y paratiroideas.

20

25

[0004] En general, la gota se divide en cuatro categorías en función de los síntomas progresivamente más graves:

30

1) Asintomática: niveles elevados de ácido úrico en sangre, pero sin síntomas evidentes.

2) Artritis gotosa aguda: aparición súbita de los síntomas, a menudo en una única articulación (normalmente en el dedo pulgar del pie) afectando, a continuación, a otras articulaciones. Entre los síntomas se incluyen dolor, hinchazón, enrojecimiento y fiebre.

35

3) Gota intercrítica: fases asintomáticas entre ataques de gota.

40

4) Gota tofácea crónica: afección crónica que puede incluir ataques frecuentes, dolor leve constante e inflamación de las articulaciones, destrucción de cartílago y hueso, desarrollo de depósitos de cristales de ácido úrico, disfunción renal y cálculos renales.

[0005] Entre los medicamentos utilizados actualmente para tratar los síntomas agudos de la gota se incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos, colchicina y corticoesteroides. Todos estos medicamentos pueden tener efectos adversos leves a severos. Se están estudiando otros tratamientos para estos síntomas agudos, que incluyen anticuerpos y antagonistas de citoquinas inflamatorias como la interleuquina-1.

45

[0006] Se usan otros tipos de medicamentos para intentar reducir la incidencia o gravedad de futuros ataques reduciendo los niveles de ácido úrico. Las tres clases de medicamentos principales son inhibidores de la xantina oxidasa (por ejemplo, alopurinol), que reduce la producción de ácido úrico a partir de xantina; fármacos uricosúricos (por ejemplo, sulfipirazona, probenecid, benzbromarona y losartán), que se pretende mejore la excreción de ácido úrico inhibiendo la recaptación de ácido úrico secretado en los túbulos renales mediante la inhibición del transportador de ácido úrico 1 (URAT1) (véase también la publicación de solicitud de patente de EE. UU. N.º 2007/0010670, publicada el 11 de enero de 2007 [Japan Tobacco Inc.]) u otros elementos de recaptación de ácido úrico, y uricasas, por ejemplo un uricasa pegilada como PURICASE (uricasa de mamífero recombinante pegilada de Savient). A menudo, estos medicamentos también producen efectos adversos significativos y no deseados. Por ejemplo, se ha descrito que alopurinol ha producido al menos 100 casos de síndrome de Stevens-Johnson/necrólisis

50

55

- tóxica epidérmica y aproximadamente 30 muertes cada año en Europa (Halevy y col., Allopurinol is the most common cause of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Europe and Israel), *J Am Acad Dermatol.* 58(1):25-32, 2008). Probenicid y benzbromarona se ha retirado del mercado en varios países debido a los efectos adversos no deseados, como insuficiencia hepática en el caso de benzbromarona. Se ha notificado que el cumplimiento del paciente con el tratamiento con estos fármacos es muy malo (A. A. Reidel y col., «Compliance with Allopurinol Therapy among Managed Care Enrollees with Gout: A Retrospective Analysis of Administrative Claim». *Journal of Rheumatology* 2004; 31:1575-1581), presumiblemente debido a los efectos adversos y/o la falta de beneficios.
- 10 **[0007]** Más de 5 millones de personas en EE. UU. tienen gota (National Health and Nutrition Examination Survey 111, 1988-1994). Se notificó que la prevalencia de hiperuricemia y gota en EE. UU. en 1999 era de 41 por 1000 y de 14 por 1000 en Reino Unido (T.R. Mikuls y col., «Gout Epidemiology: Results for the UK General Practice Research Database, 1990-1999» *Annals of the Rheumatic Diseases* 2005; 64:267-272). Informes posteriores indican que la prevalencia en EE. UU., en Reino Unido y en otros países ha ido aumentando de forma constante (K. L. Wallace y col., «Increasing Prevalence of Gout and Hyperuricemia over 10 Years Among Older Adults in a Managed Care Population», *Journal of Rheumatology* 2004; 31: 1582-1587). Los datos más recientes sugieren que muchos más de 5 millones de americanos pueden ser diagnosticados de gota en la actualidad (E. Krishnan y col., «Gout in Ambulatory Care Settings in the United States», *Journal of Rheumatology* 2008; 35(3): 498-501).
- 20 **[0008]** La hiperuricemia y la gota presentan problemas especialmente significativas en los receptores de trasplante de órganos (Stamp, L., y col. «Gout in solid organ transplantation: a challenging clinical problem», *Drugs* (2005) 65(18): 2593-2611). A menudo, el ácido úrico está elevado en pacientes con trasplantes renales y los fármacos inmunodepresores normales como la ciclosporina puede producir, especialmente, hiperuricemia severa. En los pacientes trasplantados, el alopurinol está contraindicado debido a las interacciones con algunos inmunodepresores como la azatioprina, y debido a la insuficiencia de la médula ósea causada por la combinación. Adicionalmente, el ácido úrico elevado puede contribuir al rechazo del injerto (Armstrong, K.A. y col., «Does Uric Acid Have a Pathogenetic Role in Graft Dysfunction and Hypertension in Renal Transplant Patients?», *Transplantation* (2005) 80(11): 1565-1517). Por tanto, existe una atención especialmente intensa sobre fármacos seguros que reduzcan la hiperuricemia en los receptores de trasplantes.
- 30 **[0009]** Las enfermedades relacionadas con niveles elevados de ácido úrico soluble a menudo cursan con problemas vasculares: hipertensión (Sundstrom y col., Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension, incidence. *Hypertension.* 45(1):28-33, 2005), prehipertensión (Syamela, S. y col., Association between serum uric acid and prehypertension among US adults. *J Hypertens.* 25 (8) 1583-1589, (2007), aterosclerosis (Ishizaka y col., Association between serum uric acid, metabolic syndrome, and carotid atherosclerosis in Japanese individuals. *Arterioscler Thromb Vase Biol.* (5):1038-44, 2005), arteriopatía periférica (Shankar, A. y col., Association between serum uric acid level and peripheral artery disease. *Atherosclerosis* doi 10: 1016, 2007), inflamación vascular (Zoccali y col., Uric acid and endothelial dysfunction in essential hypertension. *J Am Soc Nephrol.* 17(5):1466-71, 2006), insuficiencia cardíaca (Strasak, A.M. y col., Serum uric acid and risk of cardiovascular mortality: A prospective, long-term study of 83,683 Austrian men, *Clin Chem.* 54 (2) 273-284, 2008; Pascual-Figal, Hypericaemia and long-term outcome after hospital discharge in acute heart failure patients. *Eur J Heart Fail.* 2006, oct. 23.; [publicación electrónica previa a la edición impresa]; Cengel, A., y col., «Serum uric acid levels as a Predictor of In-hospital Death in Patients Hospitalized for Decompensated Heart Failure», *Acta Cardiol.* (Oct. 2005) 60(5): 489-492), infartos de miocardio (Strasak, A.M. y col.; Bos y col., Uric acid is a risk factor for myocardial infarction and stroke: the Rotterdam study. *Stroke.* Jun, 2006; 37(6): 1503-7), disfunción renal (Cirillo y col., Uric Acid, the metabolic syndrome, and renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 17(12 Supl 3):S165-8, 2006; Z. Avram y E. Krishnan, Hyperuricemia - where nephrology meets rheumatology. *Rheumatology (Oxford)*, 47(7): 960-964, 2008) e ictus (Bos y col., 2006). El ácido úrico causa directamente disfunción del endotelio (Kanellis, y col Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction, inflammation, and vascular disease. *Semin Nephrol.* 25(1):39-42, 2005; Khosla y col., Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int.* 67(5):1739-42, 2005). En niños y adolescentes, la hipertensión arterial idiopática de aparición temprana se asocia con niveles elevados de ácido úrico en suero y la reducción de ácido úrico con alopurinol reduce la presión arterial en estos pacientes (Feig y Johnson, The role of uric acid in pediatric hypertension. *J Ren Nutrition* 17(1): 79-83, 2007; D.I. Feig y col., Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension. *JAMA* 300(8): 924-932. 2008. Feig y col. también afirman que esta es una nueva técnica terapéutica pero que los efectos adversos de los fármacos actuales para reducir el ácido úrico pueden limitar o impedir su uso. La hiperuricemia es un factor de riesgo independiente en todas estas afecciones.
- [0010]** Los niveles elevados de ácido úrico soluble también se asocian con, o inducen directamente,

respuestas inflamatorias. Por ejemplo, el ácido úrico es transportado al interior de las células de músculo liso vascular mediante transportadores de ácidos orgánicos, especialmente el transportador de urato URAT1 y, a continuación estimula la producción en las células de músculo liso vascular de proteína C-reactiva, MCP-1 y otras citoquinas estimulando de este modo la proliferación y otros cambios asociados con la aterosclerosis (Price y col., 5 Human vascular smooth muscle cells express a urate transporter. *J Am Soc Nephrol.* 17(7):1791-5, 2006; Kang y col., Uric acid causes vascular smooth muscle cell proliferation by entering cells via a functional urate transporter. *Am J Nephrol.* 2005 25(5):425-33 (2005); Yamamoto y col., Allopurinol reduces neointimal hyperplasia in the carotid artery ligation model in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens, Res,* 29 (11) 915-921, 2006), estimula la producción por las células mononucleares humanas de 1L-1 β , IL-6 y TNF- α , provoca un aumento notable de TNF- α 10 cuando se infunden a ratones, activa a las células endoteliales y a las plaquetas y aumenta la adhesividad de estas últimas (Coutinho y col., «Associations of Serum Uric Acid with Markers of Inflammation, Metabolic Syndrome, and Subclinical Coronary Atherosclerosis». *Amer. J. Hypertens.* (2007) 20: 83-89; Levy, F., y col., «Uric Acid in Chronic Heart Failure: A Marker of Chronic inflammation», *Eur. Heart J.* (1998) 19(12): 1814-1822). También se ha demostrado que el ácido úrico inhibe la biodisponibilidad de óxido nítrico endotelial y activa el sistema renina-angiotensina (T.S. Perlstein y col., Uric acid and the state of the intrarenal renin-angiotensin system in humans. *Kidney International,* 66:1465-1470, 2004). Inokuchi y col. han mostrado que la interleuquina 18 (IL-18) y otros agentes inflamatorios reflejan la inflamación local asociada con la gota y que los cristales de urato aceleran la activación de la IL-18 (T. Inokuchi y col., Plasma IL-18 and other inflammatory cytokines in patients with gouty arthritis and monosodium urate monohydrate crystal-induced secretion of IL-18. *Cytokine,* 33(1): 21-27, 2006), que 15 parece tener un papel causal en la insuficiencia renal. La IL-18 y otras citoquinas también están significativamente elevadas en personas que no tiene gota *per se*, sino que simplemente tiene niveles elevados de ácido úrico (C. Ruggiero y col., Uric acid and inflammatory markers. *European Heart Journal.* 27: 1174-1181, 2006).

[0011] La hiperuricemia también se asocia con deterioro cognitivo y con otras formas de disfunción del sistema nervioso central (Schretlen, D.J. y col., «Serum Uric Acid and Cognitive Function in Community-Dwelling Older Adults», *Neuropsychology* (ene, 2007) 21(1): 136-140, Watanabe. S., y col., «Cerebral Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Oxonate-Induced Hyperuricemic Mice», *J. Health Science* (2006) 52: 730-737).

[0012] Niveles séricos elevados de ácido úrico también se asocian con aumento del riesgo de cáncer y de mortalidad por cáncer (Strasak, AM y col. (2007) Serum uric acid and risk of cancer mortality in a large prospective male cohort. *Cancer Causes Control* 18(9) 1021-1029, Strasak, AM y col. (2007). The role of serum uric acid as an antioxidant protecting against cancer: prospective study in more than 28,000 older Austrian women. *Annals Oncol* 18 (11) 1893-1897; Jee, SA y col. (2004) Serum uric acid and risk of death from cancer, cardiovascular disease or all causes in men *Eur. J. Cardiovascular Prev. Rehab.* 11 (3) 185-191).

[0013] Los niveles elevados de ácido úrico se asocian con prediabetes, resistencia a la insulina, desarrollo de diabetes de tipo 2 y aumento de la probabilidad de diversas afecciones no deseadas en personas con diabetes, como arteriopatía periférica, ictus y aumento del riesgo de mortalidad (Ioachimescu, A.G. y col., (2007) Serum uric acid, mortality and glucose control in patients with Type 2 diabetes mellitus: a PreCIS database study *Diabet. Med.* 24 (12) 1369-1374; Perry, I.J. y col. (1995) Prospective study of risk factors for development of non-insulin dependent diabetes in middle aged British men *BMJ* 310 (6979) 560-564; Chien, K-L y col. (2008) Plasma uric acid and the risk of Type 2 diabetes in a Chinese community *Clin. Chem.* 54 (2) 310-316; Sautin, Y. Y. y col. (2007) Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 293: C584-C596; Tseng, C.H. (2004) Independent association of uric acid levels with peripheral artery disease in Taiwanese patients with Type 2 diabetes, *Diabet. Med.* 21 (7) 724-729; Lehto, S. y col. (1998) Serum uric acid is a strong predictor of stroke in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus *Stroke* 29: 635-639).

[0014] Los niveles elevados de ácido úrico son una característica definitoria del síndrome de Lesh-Nyhan. Personas con apnea del sueño o trastornos respiratorios durante el sueño presentan niveles elevados de ácido úrico (Saito H. y col. Tissue hypoxia in sleep apnea syndrome assessed by uric acid and adenosine. *Chest* 122: 1686-1694. 2002; Verhulst, S.L., y col., Sleep-disordered breathing and uric acid in overweight and obese children and adolescents. *Chest* 132: 76-80. 2007).

[0015] Los niveles elevados de ácido úrico se asocian con preeclampsia (Bainbridge, S.A. y Roberts, J.M. Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia. *Placenta Dic.* 17 2007, publicación electrónica previa a la edición impresa).

[0016] «El ácido úrico es un factor contribuyente importante de la respuesta inflamatoria desencadenada por *P. falciparum* en células mononucleares de sangre periférica de humanos. La reacción inflamatoria inducida por *P.*

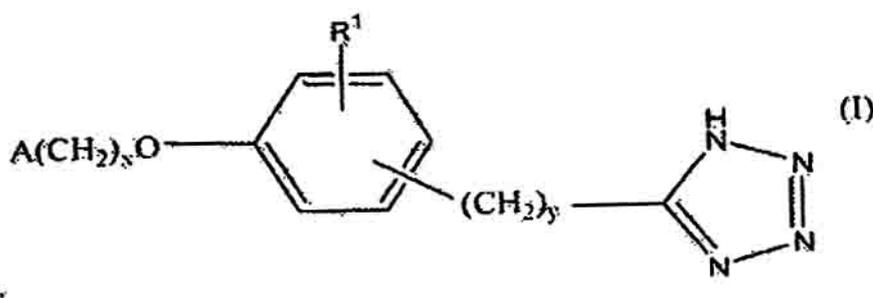
falciparum se considera una causa principal de la patogénesis de la malaria...» PLoS ONE 2009:4(4):e51941. Publicación electrónica 2009, 17 de abr.

Existe una necesidad médica significativa de nuevos medicamentos que puedan tratar y prevenir de forma segura, conveniente y eficaz trastornos relacionados con la elevación del ácido úrico en sangre, ya sean enfermedades debidas a la cristalización del ácido úrico o a los efectos de niveles supranormales (ya sea a valores individuales o en función de la población).

RESUMEN DE LA INVENCION

10

[0017] Esta invención proporciona un compuesto según se define en las reivindicaciones. También se describe un compuesto representado por la fórmula



1.

15

[0018] En la fórmula I, x es 1 o 2; y es 0, 1, 2 o 3; R^1 se selecciona a partir del grupo compuesto por hidrógeno, alquilo que tiene 1 o 2 átomos de carbono, hidroxilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino. A es fenilo, sin sustituir o sustituido por uno, dos o tres grupos seleccionados entre el grupo compuesto por halo, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, perfluorometilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, y perfluorometoxi; o cicloalquilo que tiene un anillo de 3 a 6 átomos donde el cicloalquilo no está sustituido o uno o dos carbonos del anillo están independientemente monosustituidos por metilo o etilo; o un anillo heteroaromático de 5 o 6 átomos que tiene 1 o 2 heteroátomos del anillo seleccionados entre N, S y O y el anillo heteroaromático está unido covalentemente al resto del compuesto a través de un carbono del anillo.

20

[0019] Esta invención proporciona un procedimiento para reducir la concentración de ácido úrico en sangre de un sujeto mamífero o aumentar su excreción de ácido úrico, que comprende administrar al sujeto un compuesto de esta invención en una cantidad eficaz para reducir la concentración de ácido úrico en la sangre del sujeto o aumentar su excreción de ácido úrico. Esta invención proporciona un compuesto de esta invención para su uso en la reducción de la concentración de ácido úrico en la sangre de un mamífero o aumentar su excreción de ácido úrico.

Esta invención proporciona el uso de un compuesto de esta invención en la fabricación de un medicamento para reducir la concentración de ácido úrico en la sangre de un mamífero o aumentar su excreción de ácido úrico. Esta invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en la reducción de la concentración de ácido úrico en sangre de un sujeto mamífero o aumentar su excreción de ácido úrico, que comprende un compuesto de esta invención en una cantidad eficaz para reducir la concentración en la sangre del sujeto o aumentar su excreción de ácido úrico. Esta invención proporciona un kit que comprende una o más unidades de dosis orales de un compuesto de esta invención, e instrucciones para la administración del compuesto para reducir la concentración de ácido úrico en la sangre de un sujeto mamífero o aumentar su excreción de ácido úrico.

25

30

35

[0020] La reducción del ácido úrico según se describe en este documento puede utilizarse para tratar o prevenir diversas afecciones como la gota (cualquiera o todas las gotas asintomáticas, artritis gotosa aguda, gota intercrítica y gota tofácea crónica), hiperuricemia, niveles elevados de ácido úrico que no alcanzan los niveles que habitualmente justifican un diagnóstico de hiperuricemia, disfunción renal, cálculos renales, enfermedad cardiovascular, riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular y otras consecuencias de hiperuricemia, deterioro cognitivo, hipertensión arterial idiopática de aparición temprana e inflamación inducida por *Plasmodium falciparum*.

45

[0021] Esta invención se basa en la observación de que los compuestos de esta invención inhiben URAT1 *in vitro*, como se muestra en el ejemplo 7. La inhibición de URAT1 es un modelo establecido *in vitro* de reducción del ácido úrico *in vivo*.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0022]

5 Figura 1: Efectos inhibidores dependientes de concentración del compuesto EB sobre la captación de ¹⁴Curate en células hURAT1-HEK.

Figura 2: Efectos inhibidores dependientes de concentración del compuesto EC sobre la captación de ¹⁴Curate en células hURAT1-HEK.

10

Figura 3: Concentración del compuesto EB en el plasma de ratón.

Figura 4: Curva de calibración del compuesto EB en el plasma de rata, CL-EM

15 Figura 5: Concentración del compuesto EB en el plasma de rata.

Figura 6: Curva de calibración del compuesto EC en el plasma de ratas, CL-EM

Figura 7: Concentración del compuesto EC en el plasma de rata.

20

Figura 8: Curva de calibración del compuesto EC en el plasma de rata, CL-EM

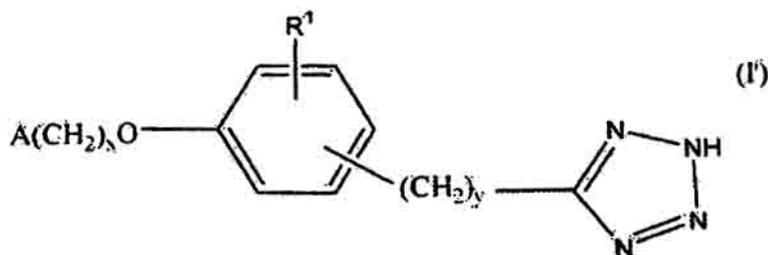
Figura 9: Concentración del compuesto EG en el plasma de rata.

25

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

DEFINICIÓN

30 [0023] Un resto 1*H*-tetrazolil-5-ilo y el correspondiente resto 2*H*-tetrazolil-5-ilo pueden existir como tautómeros. En este documento los compuestos se nombran y sus fórmulas estructurales se escriben en referencia al tautómero 1*H*. Debe entenderse que todas estas referencias incluyen ambas formas tautoméricas. Así, por ejemplo, «5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1*H*-tetrazol» incluye tanto 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1*H*-tetrazol como 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-2*H*-tetrazol. Y la fórmula 1 mostrada anteriormente como su
35 forma tautomérica 2*H*-tetrazolil-5-ilo, mostrada a continuación en la fórmula 1'.



40 [0024] Según se usa en este documento, el término «alquilo» significa un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada. Un grupo alquilo identificado como con un determinado número de átomos de carbono significa cualquier grupo alquilo que tiene el número especificado de carbonos. Por ejemplo, un alquilo con tres átomos de carbono puede ser propilo o isopropilo, y un alquilo con cuatro átomos de carbono puede ser n-butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo o t-butilo.

45 [0025] Según se usa en este documento, el término «halo» se refiere a uno o más de fluro, cloro, bromo y yodo.

[0026] Según se usa en este documento, el término «perfluro» como en perflurometilo o perflurometoxi, significa que el grupo en cuestión tiene átomos de flúor en lugar de todos los átomos de hidrógeno.

50

[0027] En este documento se hace referencia a determinados compuestos químicos por su nombre químico o por el código de dos letras que se muestran a continuación. Los compuestos EB a EI y el compuesto BD se incluyen dentro del objetivo de la fórmula I mostrada anteriormente.

5 EB 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1*H*-tetrazol

EC 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)bencil)-1*H*-tetrazol

ED 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibencil)-1*H*-tetrazol

10

EF 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenetil)-1*H*-tetrazol

EG 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metilbencil)-1*H*-tetrazol

15 BD 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)bencil)-1*H*-tetrazol

EH 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbencil)-1*H*-tetrazol

EI 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxibencil)-1*H*-tetrazol

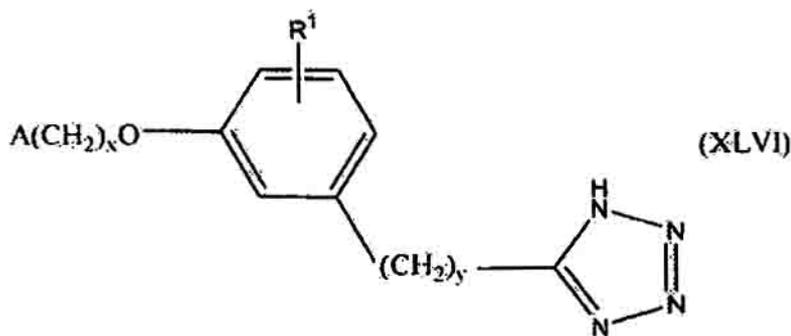
20

[0028] Según se usa en este documento el término de transición «que comprende» es ilimitado. Una reivindicación que utilice este término puede contener elementos además de los enumerados en dicha reivindicación.

25 **[0029]** Según se usa en las reivindicaciones, la palabra «o» significa «y/o» siempre que dicha interpretación no tenga sentido en el contexto. Así por ejemplo, la frase «que reduce la concentración de ácido úrico en sangre de un sujeto mamífero o aumentando su excreción de ácido úrico» es equivalente a «que reduce la concentración de ácido úrico en sangre de un sujeto mamífero y/o aumentando su excreción de ácido úrico».

30 COMPUESTOS DE LA INVENCION

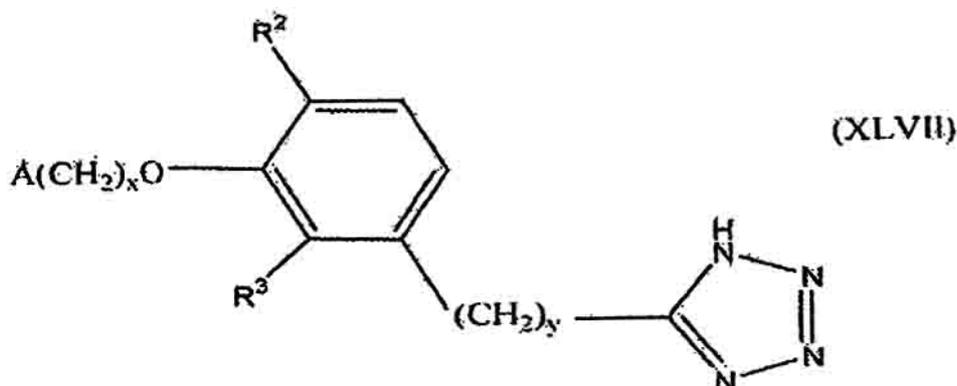
[0030] En una realización del compuesto, procedimiento, uso o composición farmacéutica descritos en el resumen anterior, el compuesto está representado por la fórmula XLVI.



35

donde x, y, R¹ y A son como se define en las reivindicaciones.

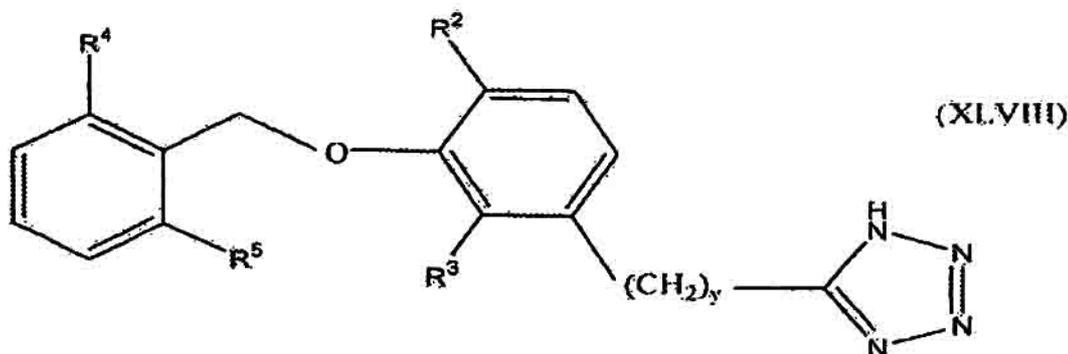
40 **[0031]** En una realización adicional de esta invención el compuesto está representado por la fórmula XLVII.



donde x, y y A son como se define en las reivindicaciones y uno de entre R² y R³ es hidrógeno y el otro se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxi, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino.

[0032] En una realización de esta invención, en la fórmula I, XLVI o XLVII, x es 1. También se describen compuestos donde A es fenilo, sin sustituir o sustituido por uno, dos o tres grupos seleccionados entre el grupo compuesto por halo, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, perfluometilalcoxi con 1 o 2 átomos de carbono y perfluorometoxi. En una realización más específica A es 2,6-dimetilfenilo. También se describe un compuesto donde A es 2,6-difluorofenilo. Preferiblemente, A es 2,6-dimetilfenilo.

[0033] En una realización de esta invención el compuesto está representado por la fórmula XLVII.



donde y es 0, 1, 2 o 3; uno de entre R² y R³ es hidrógeno y el otro se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxi, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino; y R⁴ y R⁵ se seleccionan independientemente entre el grupo compuesto por metilo, fluoro y cloro.

[0034] También se describen los compuestos representados por las fórmulas I, XLVI, XLVII o XLVIII, donde y es 0, 1 o 2. En una realización de esta invención, en las fórmulas XLVII o XLVIII, R³ es hidrógeno y R² se selecciona a partir del grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxi, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino. También se describen compuestos donde R³ es hidrógeno y R³ se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, metilo y metoxi. También se describen las fórmulas XLVII o XLVIII, donde R² es hidrógeno y R³ se selecciona entre el grupo compuesto por alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxi, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino, más específicamente R² es hidrógeno y R³ se selecciona entre el grupo compuesto por metilo y metoxi. También se describe la fórmula XLVIII, donde tanto R⁴ como R⁵ son metilo o ambos son fluoro, preferiblemente ambos son metilo.

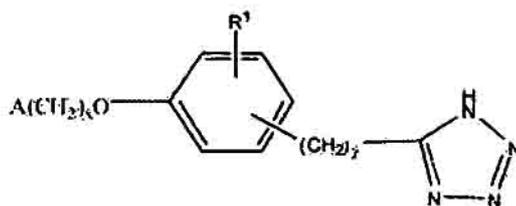
[0035] En realizaciones específicas de esta invención, el compuesto se selecciona entre el grupo compuesto por 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1H-tetrazol; 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)bencil)-1H-tetrazol; 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibencil)-1H-tetrazol; 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenetil)-1H-tetrazol; 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-

4-metilbencil)-1*H*-tetrazol; 54442 ,6-difluorobenciloxi)bencil)-1*H*-tetrazol; 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-25-metilbencil)-1*H*-tetrazol y 5-(3-(2,64)dimetilbenciloxi)-2-metoxibencil)-1*H*-tetrazol.

[0036] En una realización del compuesto de esta invención, el compuesto está en forma sustancialmente pura 5 (al menos el 98%).

ESQUEMAS DE REACCIÓN

[0037] El compuesto de fórmula I donde x es 1 o 2, y es 0 a 3, R¹ es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi 10 con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono, es decir, compuestos de fórmula:



(I)

15 donde A descrito como anteriormente, puede prepararse mediante la reacción del esquema 1. En la reacción del esquema 1, A, x, y y R¹ son como anteriormente. L es un grupo saliente.

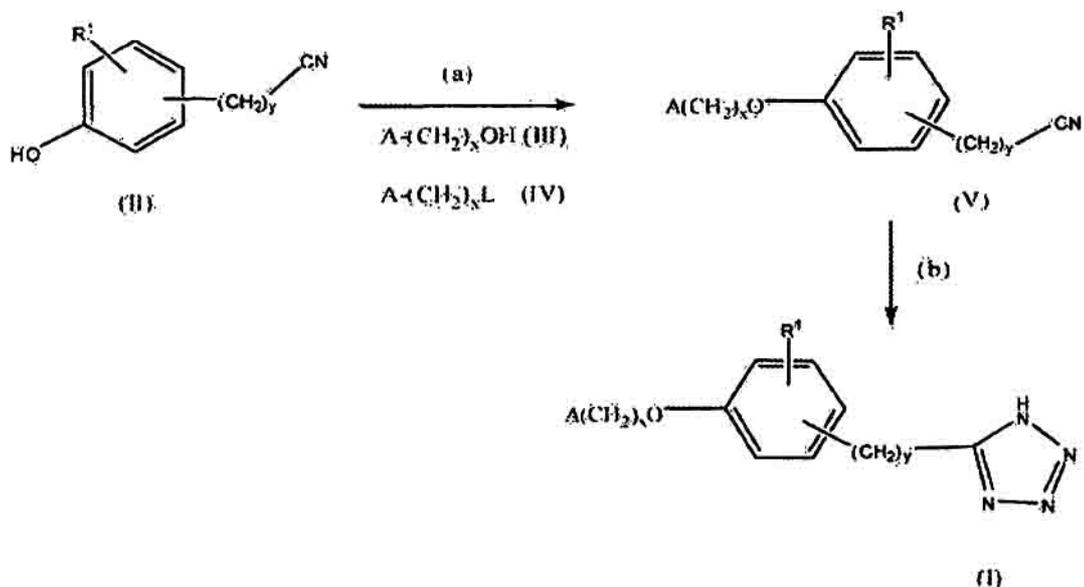
[0038] El compuesto de fórmula II pueden convertirse en el compuesto de fórmula V mediante reacción de la 20 etapa (a) usando la condensación de Mitsunobu de II con III usando trifenilfosfina o azodicarboxilato de dietilo o azodicarboxilato de diisopropilo. La reacción se lleva a cabo en un solvente adecuado por ejemplo, tetrahidrofurano. Cualquiera de las condiciones convencionalmente utilizadas en las reacciones de Mitsunobu puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (a).

[0039] El compuesto de fórmula V también puede prepararse mediante eterificación o alquilación del 25 compuesto de fórmula II con el compuesto de fórmula IV como en la reacción de la etapa (a) usando una base adecuada, por ejemplo, carbonato de potasio, trietilamina, piridina y similares. La reacción se lleva a cabo en solventes no próticos, por ejemplo N,N-dimetilformamida, acetonitrilo, diclorometano y similares. En el compuesto de fórmula IV, L incluye, pero sin limitaciones, mesiloxi, tosiloxi, cloro, bromo, yodo y similares. Puede utilizarse cualquier método convencional de eterificación de un grupo hidroxilo mediante reacción con un haluro y grupo saliente para llevar a cabo la reacción de la etapa (a).

[0040] El compuesto de fórmula V puede convertirse en el compuesto de fórmula I mediante reacción de la 30 etapa (b) haciendo reaccionar el nitrilo con una azida, por ejemplo, trimetilsilil azida o con azida metálica, por ejemplo, azida sódica, azida potásica, azida de litio, siendo la azida preferida la azida sódica en presencia de ácido de Lewis, por ejemplo, cloruro de cinc, cloruro de magnesio, cloruro de aluminio, tetracloruro de estaño y similares. La reacción se lleva a cabo en el solvente, por ejemplo, N,N-dimetilformamida a una temperatura que oscila de 80 °C a 145 °C durante 6 a 60 horas. La reacción ideal utiliza la reacción del nitrilo con azida sódica/cloruro de amonio/N,N-dimetilformamida a 120 °C durante 24 horas. Los productos pueden aislarse y purificarse mediante técnicas como extracción, evaporación, cromatografía y recristalización.

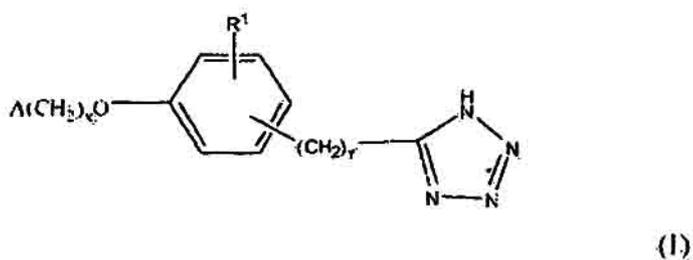
[0041] Si A es un fenilo sustituido por 1 o 2 grupos hidroxilo, se prefiere generalmente proteger los grupos 40 hidroxilo. El grupo protector adecuado puede describirse en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene. El grupo protector puede estar desprotegido tras la reacción del etapa (b) utilizando reactivos de desprotección adecuados como los descritos en «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene.

45 Esquema de reacción 1



[0042] El compuesto de fórmula I donde x es 1 o 2, y es 0 o 3, R¹ es hidroxilo, por ejemplo, compuestos de fórmula:

5



donde A se describe como anteriormente, puede prepararse mediante la reacción de esquema 2. En la reacción del esquema 2, A, x e y son como anteriormente.

10

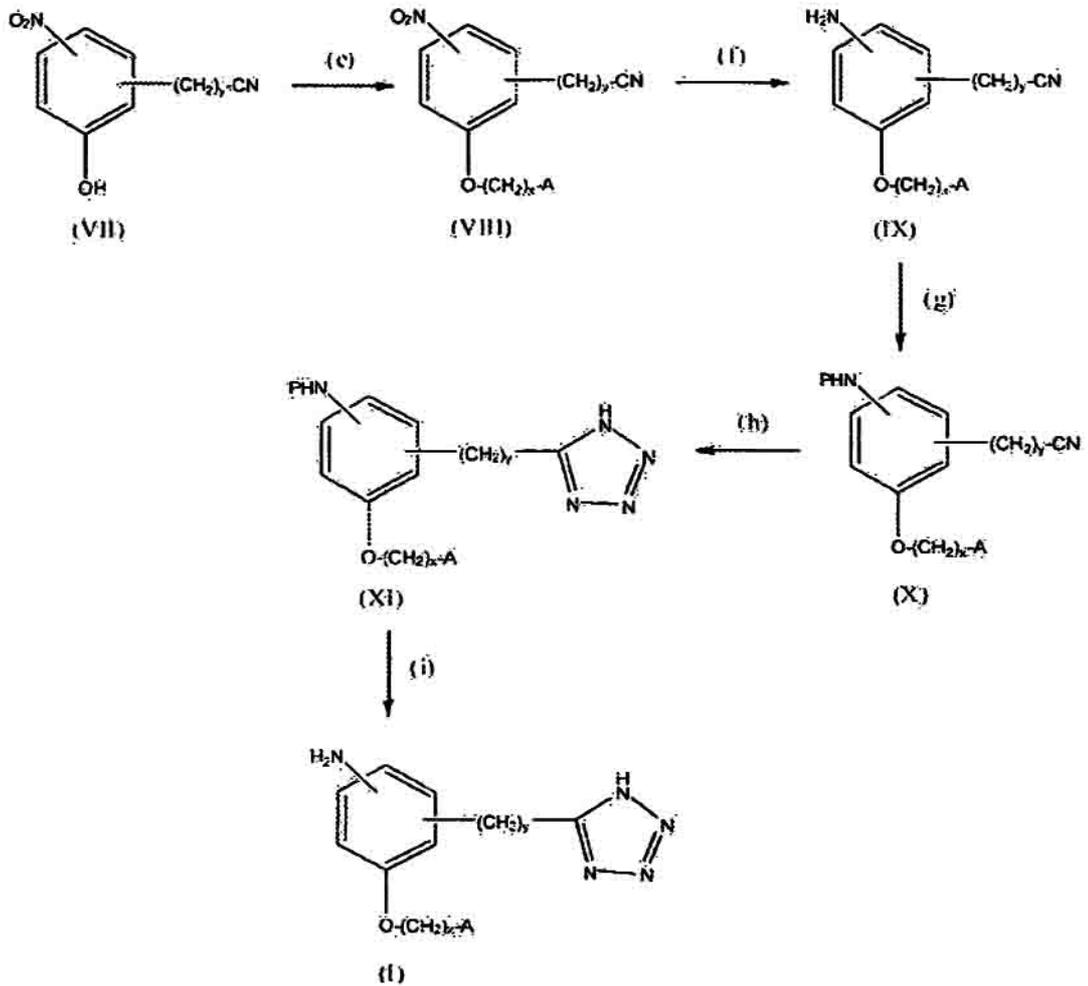
[0043] El compuesto de fórmula V puede convertirse en el compuesto de fórmula VI mediante reacción de la etapa (c) tratando el compuesto de fórmula V con tribromuro de boro o tricloruro de boro usando como solvente, por ejemplo, diclorometano durante 4 a 48 horas a los intervalos de temperatura de -72 °C a 0 °C. Puede utilizarse cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de desmetilación para llevar a cabo la reacción de la etapa (c).

15

[0044] El compuesto de fórmula VI puede convertirse al compuesto de fórmula I donde R¹ es hidroxilo mediante reacción de la etapa (d) de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (b). Los productos pueden aislarse y purificarse mediante técnicas como extracción, evaporación, cromatografía y recristalización.

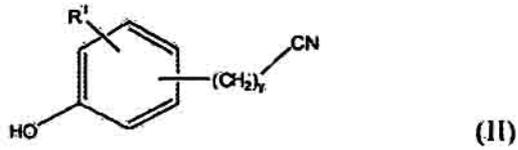
20

Esquema de reacción 2

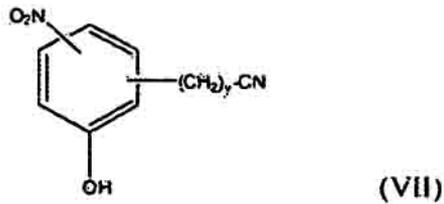


[0048] El compuesto de fórmula II donde y es de 1 a 3, R^1 es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con de 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono, es decir, compuestos de fórmula:

5



y el compuesto de fórmula VII donde y es 1 a 3, es decir, compuestos de fórmula:



10

puede prepararse mediante la reacción del esquema 4. En la reacción del esquema 4, R^3 es hidrógeno, fluoro,

bromo, cloro, nitro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. P es un grupo protector hidroxilo. R² es grupo alquilo que tiene de 1 a 2 átomos de carbono. Y es un haluro.

5 **[0049]** El compuesto de fórmula XII puede convertirse en el compuesto de fórmula XIII mediante la reacción de la etapa (j) mediante la protección, en primer lugar, de los grupos carboxílico e hidroxilo utilizando grupos protectores adecuados como los descritos en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene.

10 **[0050]** El compuesto de fórmula XIII puede reducirse al compuesto de fórmula XIV donde R³ es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono utilizando un reactivo reductor convencional que convierte el grupo éster en un alcohol mediante la reacción de la etapa (k). Para llevar a cabo esta reacción generalmente se prefiere, pero sin limitaciones, utilizar hidruro de litio y aluminio. La reacción se lleva a cabo en un solvente adecuado como tetrahidrofurano y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (k).

15 **[0051]** El compuesto de fórmula XIII puede reducirse al compuesto de fórmula XIV donde R³ es nitro utilizando los reactivos reductores que convierten el éster en un alcohol pero no reducen el grupo nitro de, por ejemplo, BH₃-THF, NaBH₄-AlCl₃ y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de reducción puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (k). El compuesto de fórmula XIV puede convertirse en el compuesto de fórmula XV desplazando el grupo hidroxilo con un halógeno, siendo el halógeno preferido bromo o cloro. Entre los reactivos de halogenación apropiados se incluyen, pero sin limitaciones, cloruro de tionilo, cloruro de oxalilo, bromuro, tribromuro de fósforo, tetrabromuro de carbono y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de halogenación puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (l).

20

25 **[0052]** El compuesto de fórmula XV puede convertirse en el compuesto de fórmula XVI mediante la reacción del XV con un cianuro de metal alcalino, por ejemplo, cianuro de sodio o potasio o cianuro de cobre. La reacción puede llevarse a cabo en un solvente adecuado, por ejemplo, dimetilsulfóxido, N, N-dimetilformamida y similares. Cualquiera de las condiciones convencionalmente utilizadas en la preparación de nitrilos a partir de haluros puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (m).

30 **[0053]** El compuesto de fórmula XVI puede convertirse en el compuesto de fórmula XVII mediante la reacción de la etapa (n) mediante la eliminación del grupo protector hidroxilo, utilizando reactivos de desprotección adecuados como los descritos en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene. El compuesto de fórmula XVII es el compuesto de fórmula II donde y es 1 y R¹ es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. El compuesto de fórmula XVII es también el compuesto de fórmula VII donde y es 1 y R³ es nitro. El compuesto de fórmula XVI puede convertirse en el compuesto de fórmula XVIII mediante reacción de la etapa (o) mediante hidrólisis ácida o básica. Para la realización de esta reacción, generalmente se prefiere utilizar hidrólisis básica, por ejemplo, hidróxido sódico acuoso en etanol y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en la hidrólisis de nitrilos en un ácido carboxílico puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (o).

35

40

[0054] El compuesto de fórmula XVIII puede reducirse para obtener el compuesto de fórmula XIX mediante la reacción de la etapa (p). Esta reacción puede llevarse a cabo de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (k). El compuesto de fórmula XIX puede convertirse en el compuesto de fórmula XX mediante la reacción de la etapa (q) de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (l). El compuesto de fórmula XX puede convertirse en el compuesto de fórmula XXI mediante la reacción de la etapa (r) de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (m). El compuesto de fórmula XXI puede convertirse en el compuesto de fórmula XXII mediante la reacción de la etapa (s) de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (n).

45

50 **[0055]** El compuesto de fórmula XXII es el compuesto de fórmula II donde y es 2 y R¹ es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. El compuesto de fórmula XVII es también el compuesto de fórmula VII donde y es 2 y R³ es nitro.

[0056] El compuesto de fórmula XXI puede hidrolizarse de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (o) para obtener el compuesto de fórmula XXIII mediante la reacción de la etapa (t).

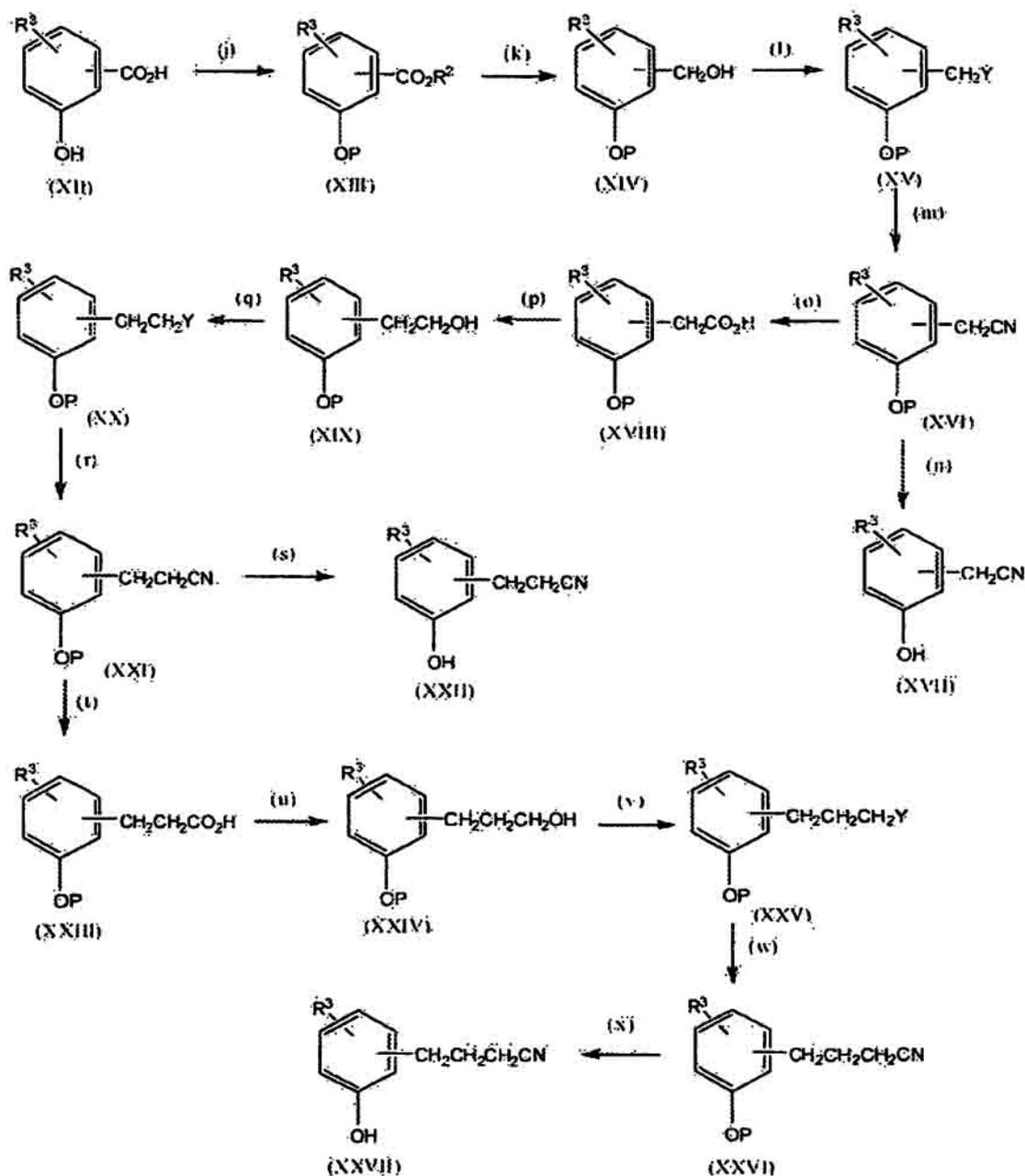
[0057] El compuesto de fórmula XXIII puede reducirse para obtener el compuesto de fórmula XXIV mediante la reacción de la etapa (u). Esta reacción puede llevarse a cabo de la misma forma que se describe antes en este

documento en la reacción de la etapa (k). El compuesto de fórmula XXIV puede convertirse en el compuesto de fórmula XXV mediante la reacción de la etapa (v) de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (l). El compuesto de fórmula XXV puede convertirse en el compuesto de fórmula XXVI mediante la reacción de la etapa (w) de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa 5 (m). El compuesto de fórmula XXVI puede convertirse en el compuesto de fórmula XXVII mediante la reacción de la etapa (x) de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (n). El compuesto de fórmula XXVII es el compuesto de fórmula II donde y es 3 y R¹ es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. El compuesto de fórmula XXVII es también el compuesto de fórmula VII donde y es 3 y R³ es nitro.

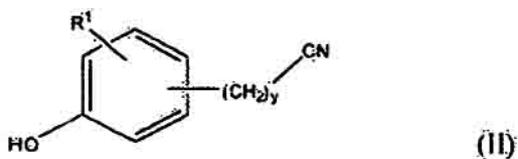
10

[0058] Los productos pueden aislarse y purificarse mediante técnicas como extracción, evaporación, cromatografía y recristalización.

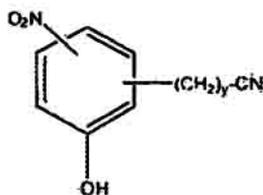
Esquema de reacción 4



El compuesto de fórmula II donde y es 0, R¹ es hidrógeno, flúor, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o 5 alquilo con 1 a 2 átomos de carbono, es decir, compuestos de fórmula:



y el compuesto de fórmula VII donde y es 0, es decir, compuestos de fórmula:



5 puede prepararse mediante el esquema de reacción 5. En la reacción del esquema 5, R³ es hidrógeno, nitro, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. P es un grupo protector hidroxilo. R² es grupo alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. R⁴ es H, cloro o bromo.

10 **[0059]** El compuesto de fórmula XXIII puede convertirse en el compuesto de fórmula XXIX mediante la reacción de la etapa (y) mediante la protección, en primer lugar, del grupo hidroxilo utilizando grupos protectores adecuados como los descritos en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene e hidrolizando, a continuación, el éster para obtener el compuesto de fórmula XXIX donde R⁴ es H.

15 **[0060]** El compuesto de fórmula XXVIII puede convertirse en el compuesto de fórmula XXIX donde R⁴ es cloro o bromo haciendo reaccionar el compuesto de fórmula de la etapa (y) con un reactivo de halogenación, por ejemplo, cloruro de tionilo, pentacloruro de fósforo, tricloruro de fósforo, bromuro, tetrabromuro de carbono y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de halogenación de ácidos carboxílico puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (z).

20 **[0061]** El compuesto de fórmula XXIX puede convertirse en el compuesto de fórmula XXX mediante la reacción de (a') haciéndolo reaccionar directamente con amoníaco directamente o haciendo reaccionar primero el compuesto de fórmula XXIX con el reactivo de conjugación, por ejemplo, dicitohexilcarbodiimida, hexafluorofosfato de benzotriazoliloxi-tris(dimetilamino)fosfonio y, a continuación, haciéndolo reaccionar con amoníaco y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en la acilación del amoníaco puede utilizarse para llevar a cabo la

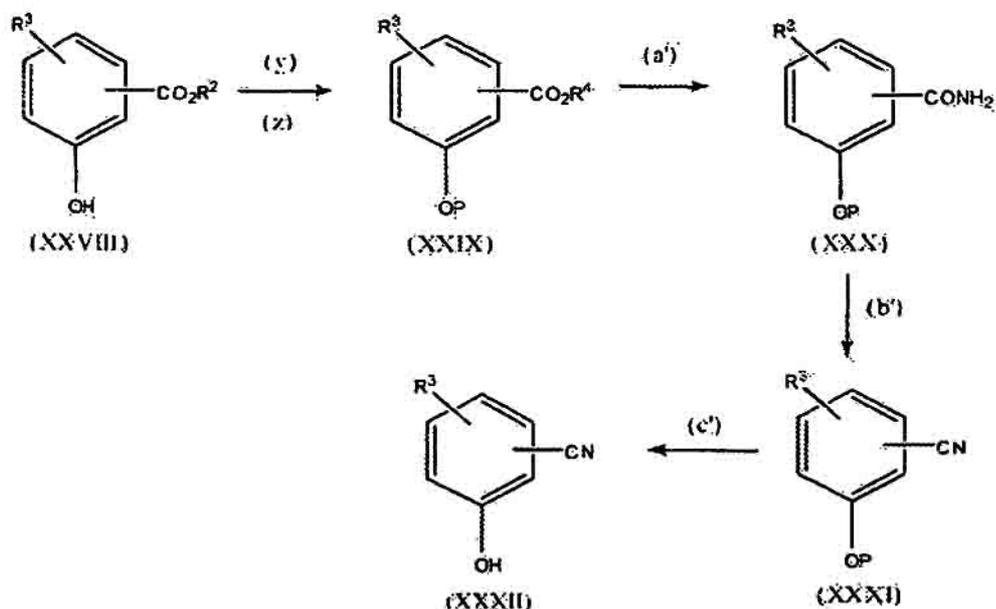
25 reacción de la etapa (a'). El compuesto de fórmula XXX puede convertirse en el compuesto de fórmula XXXI mediante la reacción de la etapa (b) mediante deshidratación utilizando reactivos como, por ejemplo, cloruro de tionilo, pentóxido de fósforo, pentacloruro de fósforo, oxiclóruo de fósforo, tetracloruro de carbono-trifenilfosfina, cloruro cianúrico y similares. La reacción se lleva a cabo sin mezcla o en un solvente adecuado, por ejemplo, N,N-dimetilformamida y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en esta reacción de deshidratación

30 puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (b').

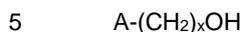
[0062] El compuesto de fórmula XXXI puede convertirse en el compuesto de fórmula XXXII mediante la reacción de la etapa (c') eliminando el grupo protector hidroxilo utilizando reactivos de desprotección adecuados como los descritos en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene. El compuesto de fórmula XXXII

35 es el compuesto de fórmula II donde y es 0 y R¹ es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. El compuesto de fórmula XXXII es también el compuesto de fórmula VII donde y es 0 y R³ es nitro. Los productos pueden aislarse y purificarse mediante técnicas como extracción, evaporación, cromatografía y recristalización.

40 Esquema de reacción 5



[0063] El compuesto de fórmula III, donde x es 1 o 2, es decir, compuestos de fórmula:



y el compuesto de fórmula IV, donde x es 1 o 2, es decir, compuestos de fórmula:



10 puede prepararse mediante la reacción del esquema 6. En la reacción del esquema 6, A es como anteriormente. L es un grupo saliente o haluro. El compuesto de fórmula XXXIII puede reducirse al compuesto de fórmula XXXIV mediante la reacción de la etapa (d'). La reacción se realiza utilizando un agente reductor convencional, por ejemplo, un hidruro de metal alcalino como hidruro de litio y aluminio. La reacción se lleva a cabo en un solvente adecuado, como tetrahidrofurano. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de reducción puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (d').

[0064] El compuesto de fórmula XXXIV es el compuesto de fórmula III donde x es 1.

20 **[0065]** El compuesto de fórmula XXXIV puede convertirse en el compuesto de fórmula XXXV desplazando el grupo hidroxilo con un grupo saliente o un haluro, siendo el grupo preferido bromo o cloro. Entre los reactivos de halogenación apropiados se incluyen, pero sin limitaciones, cloruro de tionilo, cloruro de oxalilo, bromuro, tribromuro de fósforo, tetrabromuro de carbono y similares. Entre los grupos salientes se incluyen tosilato, mesilato y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (e'). El compuesto de fórmula XXXV es el compuesto de fórmula IV donde x es 1.

30 **[0066]** El compuesto de fórmula XXXV puede convertirse en el compuesto de fórmula XXXVI mediante la reacción de XXXV con un cianuro de metal alcalino, por ejemplo, cianuro de sodio o potasio. La reacción se lleva a cabo en un solvente adecuado, por ejemplo, etanol, dimetilsulfóxido, N,N-dimetilformamida y similares. Cualquiera de las condiciones convencionalmente utilizadas en la preparación de nitrilos puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (f').

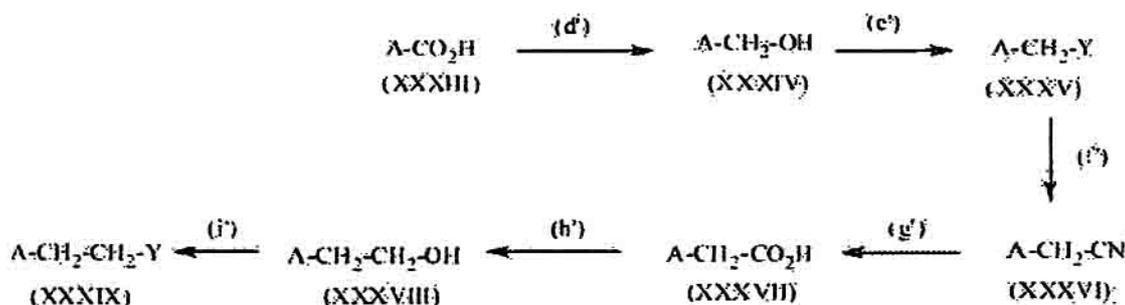
35 **[0067]** El compuesto de fórmula XXXVI puede convertirse en el compuesto de fórmula XXXVII mediante reacción de la etapa (g') mediante hidrólisis ácida o básica. Para la realización de esta reacción, generalmente se prefiere utilizar hidrólisis básica, por ejemplo, hidróxido sódico acuoso. Cualquiera de las condiciones convencionalmente utilizadas en la hidrólisis de nitrilo puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (g').

[0068] El compuesto de fórmula XXVII puede reducirse para obtener el compuesto de fórmula XXXVIII mediante la reacción de la etapa (h'). Esta reacción puede llevarse a cabo de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (d'). El compuesto de fórmula XXXVIII es el compuesto de fórmula III donde x es 2.

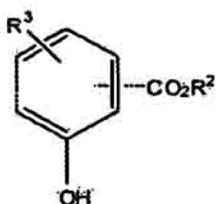
[0069] El compuesto de fórmula XXXVIII puede convertirse en el compuesto de fórmula XXXIX mediante la reacción de la etapa (i') de la misma forma que se describe antes en este documento en la reacción de la etapa (e'). El compuesto de fórmula XXXIX es el compuesto de fórmula IV donde x es 2.

[0070] Los productos pueden aislarse y purificarse mediante técnicas como extracción, evaporación, cromatografía y recristalización. Si A es un fenilo sustituido por 1 o 2 grupos hidroxilo, se prefiere generalmente proteger el grupo hidroxilo del compuesto de fórmula XXXIII. El grupo protector adecuado puede describirse en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene.

Esquema de reacción 6



[0071] El compuesto de fórmula XXVIII donde R³ es hidrógeno, fluoro, bromo, cloro, alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono o alquilo con 1 a 2 átomos de carbono, R² es un grupo alquilo con 1 a 2 átomos de carbono, es decir, compuestos de fórmula:

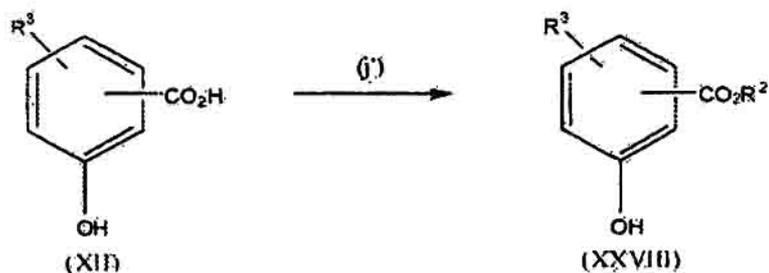


(XXVIII)

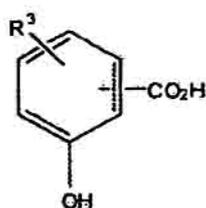
puede prepararse mediante la reacción del esquema 7. En la reacción del esquema 7. R² y R³ son como anteriormente.

[0072] El compuesto de fórmula XII puede convertirse en el compuesto de fórmula XXVIII mediante la reacción de la etapa (j') mediante esterificación del compuesto de fórmula XII con metanol o etanol. La reacción puede llevarse a cabo usando catalizadores, por ejemplo H₂SO₄, TsOH y similares o usando un agente deshidratante, por ejemplo, dicitohexilcarbodiimida y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de esterificación puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (j'). El producto puede aislarse y purificarse mediante técnicas como extracción, evaporación, cromatografía y recristalización.

Esquema de reacción 7



[0073] El compuesto de fórmula XII, donde R³ es cloro, bromo o fluoro, es decir, compuestos de fórmula:



5

están disponibles en el mercado o pueden prepararse según el procedimiento descrito en la literatura del siguiente modo:

10 1. 3-Br o F-2-OHC₆H₃CO₂H

Canadian Journal of Chemistry (2001). 79(11) 1541-1545.

2. 4-Br-2-OHC₆H₃CO₂H

15

Documentos WO 9916747 o JP 04154773.

3. 2-Br-6-OHC₆H₃CO₂H

20 Documento JP 47039101.

4. 2-Br-3-OHC₆H₃CO₂H

Documento WO 9628423.

25

5. 4-Br-3-OHC₆H₃CO₂H

Documento WO 2001002388.

30 6. 3-Br-5-OHC₆H₃CO₂H

Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals (1992), 31 (3), 175-82.

7. 2-Br-5-OHC₆H₃CO₂H y 3-Cl-4-OHC₆H₃CO₂H

35

Documentos WO 9405153 y US 5519133.

8. 2-Br-4-OHC₆H₃CO₂H y 3-Br-4-OHC₆H₃CO₂H

40 Documento WO 20022018323.

9. 2-Cl-6-OHC₆H₃CO₂H

Documento JP 06293700.

5 10. 2-Cl-3-OHC₆H₃CO₂H

Proceedings of the Indiana Academy of Science (1983), Fecha del volumen 1982. 92, 145-51.

11. 3-Cl-5-OHC₆H₃CO₂H

10

Documentos WO 2002000633 y WO 2002044145.

12. 2-Cl-5-OHC₆H₃CO₂H

15 Documento WO 9745400.

[0074] El compuesto de fórmula XII, donde R³ es alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono, es decir, compuestos de fórmula:



(XII)

20

puede prepararse mediante la reacción del esquema 8. En la reacción del esquema 8, R² es un grupo alquilo con 1 a 2 átomos de carbono. P es un grupo protector hidroxilo. El compuesto de fórmula XL puede convertirse en el compuesto de fórmula XLI mediante la reacción de la etapa (k') protegiendo el grupo fenol mediante un grupo protector adecuado. Las condiciones adecuadas para el grupo protector pueden estar descritas en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene.

25

[0075] El compuesto de fórmula XLI puede convertirse en el compuesto de fórmula XLII mediante oxidación del aldehído a ácido carboxílico. La reacción puede llevarse a cabo usando reactivos oxidantes adecuados como, por ejemplo, clorocromato de piridinio, permanganato de potasio, permanganato sódico y similares. Cualquiera de las condiciones adecuadas en estas reacciones de oxidación puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (l').

30

[0076] El compuesto de fórmula XLII puede convertirse en el compuesto de fórmula XII mediante la reacción de la etapa (m') donde R³ es alcoxi que tiene un átomo de carbono debido a la desprotección del grupo protegido. La condición de desprotección adecuada puede estar descrito en el texto Grupos protectores en la síntesis orgánica de T. Greene.

35

[0077] El compuesto de fórmula XLII puede convertirse en el compuesto de fórmula XLIII tratando el compuesto de fórmula XLII con tribromuro de boro o tricloruro de boro usando como solvente, por ejemplo, diclorometano durante 4 a 48 horas a una temperatura de -72 °C a 0 °C. Puede utilizarse cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de desmetilación para llevar a cabo la reacción de la etapa (n').

40

[0078] El compuesto de fórmula XLIII puede convertirse en el compuesto de fórmula XLIV mediante esterificación del compuesto de fórmula XLIII con metanol o etanol. La reacción puede llevarse a cabo usando catalizadores, por ejemplo, H₂SO₄, TsOH y similares, o usando un agente de deshidratación como, dicitlohexilcarbodiimida y similares. Cualquiera de las condiciones convencionales en estas reacciones de esterificación puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (o').

45

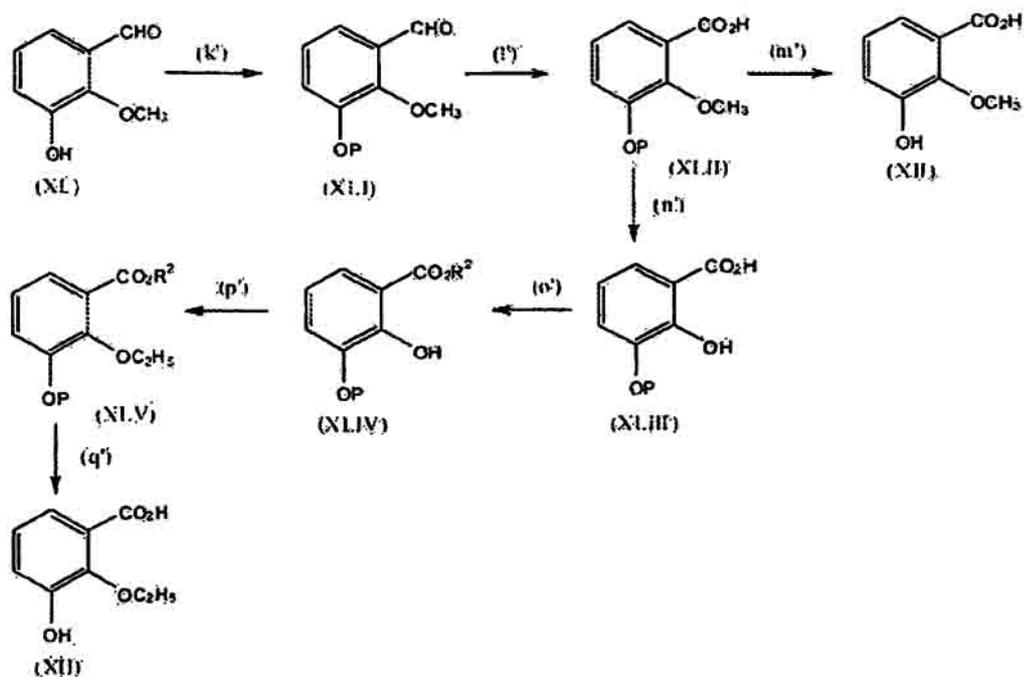
[0079] El compuesto de fórmula XLIV puede convertirse en el compuesto de fórmula XLV eterificando o alquilando el compuesto de fórmula XLIV con haluro de etilo usando bases adecuadas, por ejemplo, carbonato de potasio, hidruro sódico, piridina y similares. La reacción puede llevarse a cabo en solventes convencionales, como, tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida, diclorometano y similares. Generalmente, la reacción se lleva a cabo a

50

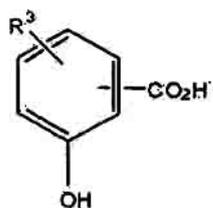
temperaturas de 0 °C a 40 °C. Cualquiera de las condiciones adecuadas en estas reacciones de alquilación puede utilizarse para llevar a cabo la reacción de la etapa (p').

[0080] El compuesto de fórmula XLV puede convertirse en el compuesto de fórmula XII mediante la reacción 5 de la etapa (q') donde R³ es alcoxi que tiene 2 átomos de carbono debido a la desprotección del grupo protector. Las condiciones de desprotección adecuadas pueden estar descritos en el texto «Grupos protectores en la síntesis orgánica» de T. Greene. El producto puede aislarse y purificarse mediante técnicas como extracción, evaporación, cromatografía y recristalización.

10 Esquema de reacción 8



[0081] El compuesto de fórmula XII, donde R³ es alcoxi con 1 a 2 átomos de carbono, es decir, compuestos 15 de fórmula:



(XII)

están disponibles en el mercado o pueden prepararse según los procedimientos descritos en la literatura del 20 siguiente modo:

1. 2-OMe-4-OHC₆H₃CO₂H

Documentos US 2001034343 o WO 9725992.

25

2. 5-OMe-3-OHC₆H₃CO₂H

J.O.C. (2001), 66(23), 7883-88.

3. 2-OMe-5-OHC₆H₃CO₂H

5

Documento US 6194406 (página 96) y Journal of the American Chemical Society (1985), 107(8), 2571-3.

4. 3-OEt-5-OHC₆H₃CO₂H

10 Taiwan Kexue (1996), 49(1), 51-56.

5. 4-OEt-5-OHC₆H₃CO₂H

Documento WO 9626176.

15

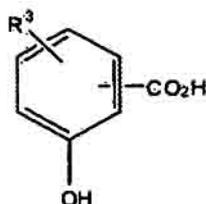
6. 3-OEt-4-OHC₆H₃CO₂H

Takeda Kenkyusho Nempo (1965), 24,221-8. Documento JP 07070025.

20 7. 3-OEt-4-OHC₆H₃CO₂H

Documento WO 9626176.

[0082] El compuesto de fórmula XII, donde R³ es alquilo con de 1 a 2 átomos de carbono, es decir,
25 compuestos de fórmula:



(XII)

están disponibles en el mercado o pueden prepararse según el procedimiento descrito en la literatura del siguiente
30 modo:

1. 5-Me-3-OHC₆H₃CO₂H y 2-Me-5-OHC₆H₃CO₂H

Documento WO 9619437.

35

J.O.C. 2001, 66, 7883-88.

2. 5-Me-4-OHC₆H₃CO₂H

40 Documento WO 8503701.

3. 3-Et-2-OHC₆H₃CO₂H y 5-Et-2-OHC₆H₃CO₂H

J. Med. Chem. (1971), 14(3), 265.

45

4. 4-Et-2-OHC₆H₃CO₂H

Yaoxue Xuebao (1998), 33(1), 67-71.

50 5. 5-Et-6-OHC₆H₃CO₂H y 2-n-Pr-6-OHC₆H₃CO₂H

J. Chem. Soc., Perkin Trans J (1979), (8), 2069-78.

6. 2-Et-3-OHC₆H₃CO₂H

5 Documentos JP 10087489 y WO 9628423.

7. 4-Et-3-OHC₆H₃CO₂H

J.O.C. 2001, 66, 7883-88.

10

Documento WO 9504046.

8. 2-Et-5-OHC₆H₃CO₂H

15 J.A.C.S (1974), 96(7), 2121-9.

9. 2-Et-4-OHC₆H₃CO₂H y 3-Et-4-OHC₆H₃CO₂H

Documento JP 04282345.

20

10. 1. 3-Et-5-OHC₆H₃CO₂H

Síntesis adaptadas de J.O.C. 2001, 66, 7883-88 usando 2-etilacroleína.

25 USO EN PROCEDIMIENTOS DE TRATAMIENTO

[0083] Esta invención proporciona un procedimiento para reducir los niveles de ácido úrico en sujetos mamíferos o aumentar la excreción de ácido úrico de un sujeto mamífero. El nivel de ácido úrico en un mamífero puede determinarse usando cualquier medida convencional. Típicamente, se determina el nivel de ácido úrico en sangre. El ácido úrico también puede depositarse en los tejidos, lo que da lugar a depósitos (p. ej., tofos) que pueden verse afectados por la elevación o reducción de las concentraciones de ácido úrico en sangre y que, en consecuencia, pueden contribuir al ácido úrico en circulación. El procedimiento de esta invención para reducir el ácido úrico pueden usarse para tratar o prevenir diversas afecciones como gota, hiperuricemia, niveles elevados de ácido úrico que no alcanzan los niveles que habitualmente justifican un diagnóstico de hiperuricemia, cálculos renales, enfermedad cardiovascular, factor de riesgo cardiovascular y deterioro cognitivo. Reduciendo los niveles de ácido úrico, la administración de los compuestos de esta invención ralentizan la progresión de la enfermedad renal. Un nivel de ácido úrico elevado se ha identificado como un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular. Se ha encontrado una correlación significativa entre el ácido úrico elevado y el deterioro cognitivo en adultos de más edad (Schretlen, D.J. y col., «Serum Uric Acid and Cognitive Function in Community-Dwelling Older Adults». Neuropsychology (Jan. 2007) 21(1): 136-140). Por consiguiente, el procedimiento de esta invención para reducir el ácido úrico puede usarse para tratar o prevenir el deterioro cognitivo, incluido el deterioro cognitivo en adultos de mayor edad. Es bien sabido que las personas con el síndrome de Lesch-Nyhan presentan niveles elevados de ácido úrico y sufren las numerosas consecuencias de esta hiperuricemia, incluida la gota. Por tanto, esta invención para reducir los niveles en sangre y aumentar la eliminación de ácido úrico puede usarse para tratar a personas con síndrome de Lesch-Nyhan.

[0084] El intervalo normal de ácido úrico en sangre está entre 3,4 mg/dl y 7,0 mg/dl en varones, entre 2,4 mg/dl y 6,0 mg/dl en mujeres premenopáusicas y de 2,5 mg/dl a 5,5 mg/dl en niños. La formación/precipitación de cristales de urato normalmente se produce en varones a niveles de 6,6 mg/ml o superiores y en mujeres a niveles de 6,0 mg/dl o superiores. Esto demuestra que los niveles de ácido úrico que están dentro del denominado intervalo normal pueden tener consecuencias sobre la salud no deseables incluso inducir gota. Además, lo que puede estar en el intervalo normal para la población en su conjunto puede ser elevado para el individuo. Las consecuencias cardiovasculares y de otro tipo del ácido úrico elevado pueden producirse con niveles en sangre que estén bien dentro de estos intervalos «normales». Por tanto, un diagnóstico de hiperuricemia no es necesariamente un requisito para los efectos beneficiosos de los compuestos de la invención.

[0085] Esta invención incluye el tratamiento de la hiperuricemia asociada con gota, hipertensión, inflamación vascular, insuficiencia cardíaca, enfermedades arteriovenosas, infarto de miocardio, ictus, preeclampsia, eclampsia, apnea del sueño, disfunción renal (incluidas insuficiencia renal y enfermedad renal en fase terminal [ERFT]),

trasplante de órganos, diuréticos, tiazidas, ciclosporina, ácido acetilsalicílico, vitamina C, ácido nicotínico, levodopa (L-DOPA), fármacos citotóxicos y determinados agentes antibacterianos (como pirozinamida), cirrosis, disfunción tiroidea, disfunción paratiroidea, cáncer de pulmón, anemia, leucemia, linfoma, mieloma múltiple, síndrome de lisis tumoral, disfunción tiroidea o paratiroidea, síndrome de Lesch-Nyhan, tabaquismo, consumo de alcohol y psoriasis.

5 Esta invención incluye el tratamiento de la hiperuricemia que puede inducir gota, formación de cristales de urato, disfunción renal, rechazo del injerto o el órgano tras el trasplante, trastornos endoteliales (como inflamación), insuficiencia cardíaca crónica, trastornos arteriovenosos, preeclampsia, eclampsia, hipertensión y deterioro cognitivo. En realizaciones del procedimiento de esta invención para el tratamiento de la gota, los depósitos tisulares de ácido úrico, incluyendo pero sin limitaciones los tofos, se reducen y la incidencia e intensidad de los ataques de gota
10 también se reducen.

[0086] Los compuestos de esta invención pueden administrarse mediante cualquier vía convencional de administración sistémica. Preferiblemente se administran por vía oral. Por consiguiente, se prefiere que el medicamento esté formulado para administración oral. También pueden usarse otras vías de administración según
15 esta invención incluyendo por vía rectal, parenteral, mediante inyección (p. ej., inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal) o nasal.

[0087] Realizaciones adicionales de cada uno de los usos y sus usos en tratamiento de esta invención comprenden la administración de una cualquiera de las realizaciones de los compuestos descritos anteriormente. En interés de evitar redundancias innecesarias, no se repite cada compuesto o grupo de compuestos, sino que se incorporan a esta descripción de usos o usos en tratamiento si se repitieron.
20

[0088] Puede tratarse tanto a sujetos mamíferos humanos como no humanos según el tratamiento usado en esta invención. La dosis óptima de un compuesto en particular de la invención para un sujeto en particular puede determinarse en el ámbito clínico por un médico experto, en el caso de la administración oral del compuesto de esta invención generalmente administrado a adultos: en una dosis diaria de 1 mg a 2500 mg, más preferiblemente de 1 mg a 1200 mg. En otras realizaciones de esta invención, el compuesto se administra a una dosis de 400 mg a 1000 mg, de 600 mg a 800 mg, de 600 mg a 1000 mg o de 100 a 300 mg administrados una o dos veces al día. El peso corporal medio de un adulto típico es de 60 a 70 kilogramos, por lo que los intervalos de dosis apropiados expresados como mg/kg son aproximadamente de 0,015 a 42 mg/kg, de 0,015 a 20 mg/kg, de 6,6 a 13 mg/kg, de 10 a 13 mg/kg, de 10 a 16 mg/kg o de 1,67 a 4,3 mg/kg, administrado una o dos veces al día. Cuando se trata a niños, el médico del paciente determina la dosis óptima. En el caso de administración oral a un ratón, el compuesto de esta invención se administra generalmente a una dosis diaria de 1 a 300 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal.
35

[0089] El compuesto de esta invención puede administrarse en combinación con otros fármacos que reducen el ácido úrico. En estos casos, la dosis del compuesto de esta invención es como se describe anteriormente. Puede utilizarse cualquier fármaco reductor de ácido úrico convencional o en investigación en combinación con el compuesto de esta invención. Entre los ejemplos de estos fármacos se incluyen inhibidores de la xantina oxidasa como el alopurinol (de 100 mg/día a 1000 mg/día; más típicamente de 100 mg/día a 300 mg/día), febuxostat (de 40 mg/día a 120 mg/día; más específicamente de 60 mg/día a 80 mg/día) y oxipurinol; Puricasa/PEG-uricasa (de 4 mg a 12 mg cada dos semanas mediante infusión); fármacos uricosúricos como sulfipirazona (de 100 mg/día a 800 mg/día), probenecid (500 mg/día), losartán (de 25 mg/día a 200 mg/día, más típicamente de 50 mg/día a 100 mg/día), fenolibrato, JTT-552 (un inhibidor de URAL-1), benzbromarona (de 70 mg/día a 150 mg/día) y estatinas como la atorvastatina (LIPITOR®). El otro fármaco reductor del ácido úrico puede administrarse en su cantidad habitual o en una cantidad menor que la habitual administrando dosis menores de dicho otros fármaco o reduciendo su frecuencia de administración.
45

[0090] Los compuestos de esta invención pueden administrarse junto con otros fármacos utilizados para disminuir el dolor asociado con los ataques de gota, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), colchicina, corticoesteroides y otros analgésicos.
50

[0091] En el transcurso de la reducción de los niveles de ácido úrico en sangre se espera que los compuestos de esta invención aumenten los niveles de ácido úrico en la orina. Para aumentar el pH de la orina y mejorar de este modo la solubilidad del ácido úrico, puede administrarse, por ejemplo, citrato o bicarbonato, junto con en compuesto de esta invención.
55

[0092] Puede administrarse al sujeto una mezcla del compuesto de esta invención o su sal con uno o más de otros fármacos reductores del ácido úrico, analgésicos y agentes que aumentan el pH. Alternativamente, el

compuesto de esta invención o su sal y el uno o más de otros fármacos reductores del ácido úrico, analgésicos y agentes que aumentan el pH no se mezclan para formar una mezcla sino que se administran al sujeto de forma independiente. Cuando no se mezclan los principios activos para obtener una mezcla o composición única es conveniente proporcionarlos en forma de un kit que comprenda uno o más dosis unitarias orales de un compuesto de esta invención, una o más dosis unitarias orales de uno o más de otros fármacos reductores de ácido úrico, analgésicos o agentes que aumentan el pH, y las instrucciones para la administración del compuesto de esta invención en combinación con los otros principios activos. Preferiblemente los componentes del kit están empaquetados conjuntamente, tal como en una caja o en un blíster.

10 COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

[0093] Esta invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de esta invención y, opcionalmente, un vehículo farmacéuticamente aceptable. Realizaciones adicionales de la composición farmacéutica de esta invención comprenden una cualquiera de las realizaciones de los compuestos descritos anteriormente. En interés de evitar redundancias innecesarias, no se repite cada compuesto y grupo de compuestos, sino que se incorporan a esta descripción de composiciones farmacéuticas como si se repitiesen.

[0094] Preferiblemente la composición se adapta para su administración oral, por ejemplo, en forma de comprimido, comprimido recubierto, grageas, capsulas de gelatina duras o blandas, solución, emulsión o suspensión. En general, la composición oral comprenderá de 1 mg a 2500 mg, más preferiblemente, de 1 mg a 1200 mg del compuesto de esta invención. En realizaciones más específicas de esta invención, la composición oral comprenderá de 400 mg a 1000 mg, de 600 mg a 800 mg, de 600 mg a 1000 mg o de 100 a 300 mg del compuesto de esta invención. Es conveniente que el sujeto trague uno o dos comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas o cápsulas de gelatina al día. No obstante, la composición también puede adaptarse para su administración mediante cualquier otro medio convencional de administración sistémica, incluido por vía rectal, por ejemplo, en forma de supositorios, parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones para inyección, o nasal.

[0095] Los principios activos se pueden procesar con vehículos farmacéuticamente inertes, inorgánicos u orgánicos para la producción de composiciones farmacéuticas. Pueden usarse lactosa, almidón de maíz o sus derivados, talco, ácido esteárico o sus sales, y similares, por ejemplo, como vehículos para comprimidos, comprimidos recubiertos y cápsulas de gelatina duras. Los vehículos adecuados para las cápsulas de gelatina blandas son, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas, polioles semisólidos y líquidos y similares. No obstante, dependiendo de la naturaleza del principio activo, normalmente no son necesarios vehículos en el caso de las cápsulas de gelatina blandas, excepto la propia gelatina blanda. Los vehículos adecuados para la producción de soluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares. Los vehículos adecuados para los supositorios son, por ejemplo, aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas, polioles semilíquidos o líquidos y similares.

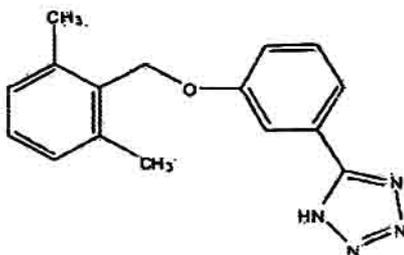
[0096] Las composiciones farmacéuticas pueden, además, contener conservantes, solubilizadores, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, potenciadores del sabor, sales para variar la presión osmótica, tampones, agentes de recubrimiento o antioxidantes.

[0097] La invención se entenderá mejor en referencia al siguiente ejemplo que ilustra, pero sin limitaciones, la invención descrita en este documento.

45 EJEMPLOS

EJEMPLO 1

50 **[0098]**

5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1*H*-tetrazol

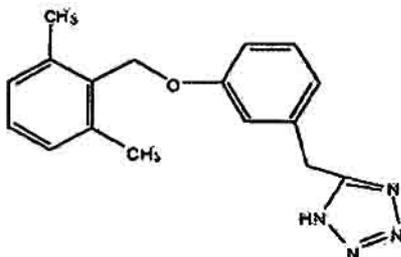
5 Etapa A: Preparación de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)benzonitrilo:

[0099] Una solución de alcohol 2,6-dimetilbencílico (6,27 g; 46,1 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD; 9,24 g, 45,7 mmoles) en THF seco (30 ml) se añadió gota a gota a una solución de 3-hidroxibenzonitrilo (5 g; 37 mmoles) y trifetilfosfina (TPP 11,99 g; 45,7 mmoles) en THF (100 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 4 horas o hasta que se consumió la materia prima, se diluyó con éter y se lavó con agua (2X). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título como un sólido de color blanco.

15 Etapa B: Preparación de 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1*H*-tetrazilo:

[0100] Una mezcla de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)benzonitrilo (etapa A; 3 g; 11,8 mmoles), azida sódica (847 g; 13 mmoles) y cloruro de amonio (0,697 g; 13 mmoles) en dimetilformamida seca (30 ml) se calentó bajo atmósfera de argón a 110 °C durante 14 horas y hasta que se consumió toda la materia prima. Se añadió agua a la mezcla de reacción para disolver todos los sólidos; la solución se recogió en salmuera y se extrajo con acetato de etilo (2X). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (cloroformo:metanol 95:5) para obtener el compuesto del título como un sólido de color blanco.

[0101] RMN ¹H (400 MHz (CD₃)₂SO), 2,4 (s, 6H); 5,15 (s, 2H); 7,1 (d, 2H); 7,15 (m, 1H); 7,3 (dd, 1 H); 7,5 (t, 1H); 7,65 (m, 1H); 7,7 (m, 1H).

EJEMPLO 230 **[0102]**5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)bencil)-1*H*-tetrazol

35

Etapa A: Preparación de 2-(3-hidroxifenil)acetonitrilo:

[0103] A una solución de 2-(3-metoxifenil)acetonitrilo (3,6 g; 25,4 mmoles) en cloruro de metileno seco (20 ml) se añadió BBr₃ (55 ml 1M en CH₂Cl₂, 55 mmoles) a -78°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 48 horas, se amortiguó con hielo picado y se extrajo con cloruro de metileno. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (CH₂Cl₂:acetato de etilo 4:1) para obtener el compuesto del título como un aceite.

Etapa B: Preparación de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)acetonitrilo:

[0104] Una solución de 2-(3-hidroxifenil)acetonitrilo (etapa A, 5 g, 37 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD; 3,38 g; 16,7 mmoles) en THF seco (20 ml) se añadió gota a gota a una solución de alcohol 2,6-dimetilbencílico (2,25 g; 16,5 mmoles) y trifetilfosfina (TEPP; 4,3 g; 16,4 mmoles) en THF (30 ml) a 0 °C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas o hasta que se consumió toda la materia prima. Se añadió gel de sílice (25 g) a la mezcla, los solventes se eliminaron a presión reducida, se cargó en una columna de gel de sílice y se eluyó con cloruro de metileno:hexano (1:1) para obtener un sólido cristalino de color amarillo claro.

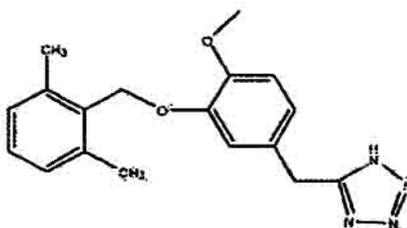
Etapa C: Preparación de 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)bencil)-1*H*-tetrazol

[0105] Una mezcla de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)acetonitrilo (etapa B; 3,2 g; 12,7 mmoles), azida sódica (1,28 g; 16,7 mmoles) y cloruro de amonio (1,8 g; 20,2 mmoles) en dimetilformamida seca (30 ml) se calentó bajo atmósfera de argón a 90 °C durante 9 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, y la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. La mezcla de reacción se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua (2X), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (cloruro de metileno:metanol 9:1) para obtener el producto oleoso. El aceite se agitó con acetato de etilo, hexano 1:2 durante 10 minutos y el sólido se filtró para obtener el producto como un sólido de color blanco.

[0106] RMN ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO): 2,3 (s, 6H); 4,25 (s, 2H); 5,15 (s, 2H); 6,84 (d, 1H); 6,96 (m, 2H); 7,08 (d, 2H); 7,18 (m, 1H); 7,28 (m, 1H).

25 EJEMPLO 3

[0107]



30 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibencil)-1*H*-tetrazol

Etapa A: Preparación de 3-hidroxi-4-metoxibenzoato de etilo:

35 **[0108]** Una solución de ácido 3-hidroxi-4-metoxibenzoico (25 g; 148,67 mmoles) y ácido p-toluensulfónico monohidrato (3,17 g; 16,66 mmoles) en etanol absoluto (300 ml) se calentó a reflujo durante 6 horas o hasta que se consumió toda la materia prima. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con EtOAc (60 ml) y se lavó con agua (20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

40 Etapa B: Preparación de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibenzoato de etilo:

[0109] Una solución de 3-hidroxi-4-metoxibenzoato de etilo (etapa A; 9,10 g; 46,4 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD; 10,23 g; 50 mmoles) en THF seco (20 ml) se añadió gota a gota a una solución de alcohol 2,6-dimetilbencílico (6,94 g; 51 mmoles) y trifetilfosfina (TEPP; 13,27 g; 50 mmoles) en THF (60 ml) a 0 °C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 4 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, se diluyó con éter y se lavó con agua (2X). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

50 Etapa C: Preparación de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxifenil)metanol:

[0110] A una solución de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibenzoato de etilo (etapa B; 6,04 g; 19,23 mmoles) en THF seco (30 ml) se le añadió LiAlH_4 (1 M en THF 0,803 g; 21,16 mmoles) gota a gota a 0°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas o hasta que se consumió toda la materia prima; después, se amortiguó lentamente con HCl 1 N. Se añadió EtOAc (20 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se filtró y el precipitado se lavó con EtOAc (25 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con HCl 1N y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 4:1) para obtener el compuesto del título.

10 Etapa D: Preparación de 2-((5-(bromometil)-2-metoxifenoxi)metil)-1,3-dimetilbenceno:

[0111] A una solución de (3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxifenil)metanol (etapa C, 5,23 g, 20,4 mmoles) y CBr_4 (10,16 g, 30,6 mmoles) en CH_2Cl_2 seco (20 ml) se le añadió trifenilfosfina en porciones (8,03 g, 30,64 mmoles) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex: acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

[0112] RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,43 (s, 6H); 3,83 (s, 3H); 4,53 (s, 2H); 5,08 (s, 2H); 6,84 (d, 1H); 7,0- 7,03 (dd, 1H); 7,06-7,09 (m, 3H); 7,14-7,18 (m, 1H).

20 Etapa E: Preparación de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxifenil)acetonitrilo:

[0113] La solución de 2-((5-(bromometil)-2-metoxifenoxi)metil)-1,3-dimetilbenceno (etapa D, 3,28 g, 9,7 mmoles) y NaCN (0,624 g; 12,7 mmoles) en DMF seca (20 ml) se calentó a 120°C durante 2,5 horas, a continuación, se enfrió y diluyó con EtOAc (50 ml). La capa orgánica se lavó con agua (30 ml) y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

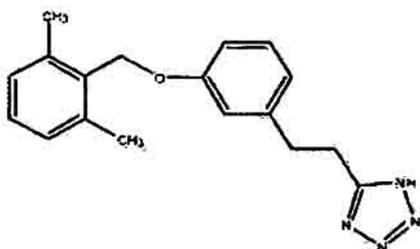
Etapa F: Preparación de 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibencil)-1H-tetrazol:

[0114] Una mezcla de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxifenil)acetonitrilo (etapa E; 2,17 g; 7,5 mmoles), azida sódica (0,590 g; 9,1 mmoles) y cloruro de amonio (0,486 g; 9,1 mmoles) en DMF seca (20 ml) se calentó bajo atmósfera de argón a 90 °C durante 16 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, la mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (30 ml x 4). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (cloroformo:metanol 95:5) para obtener un producto semisólido. El semisólido se agitó con acetato de etilo:hexano 1:2 (15 ml) durante 10 minutos y se filtró para obtener el producto como un sólido de color blanco.

[0115] RMN ^1H (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): 2,3 (s, 6H); 3,68 (s, 3H); 4,22 (s, 2H); 4,98 (s, 2H); 6,78-6,81 (dd, 1H); 6,91-6,93 (d, 1H); 7,05-7,07 (d, 2H); 7,13-7,16 (m, 2H). EM: m/z 325,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

EJEMPLO 4

[0116]



45

5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenetil)-1H-tetrazol

Etapa A: Preparación de 3-(3-metoxifenil)propanonitrilo:

50

[0117] La solución de 1-(2-bromoetil)-3-metoxibenceno (10 g, 46,4 mmoles), NaCN (2,73 g; 55,8 mmoles) en

DMF seca (20 ml) se calentó a 90°C durante 6 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, la reacción se enfrió, se diluyó con EtOAc (60 ml) y se lavó con agua (20 ml x 3) y salmuera, la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título como un aceite.

5

Etapa B: Preparación de 3-(3-hidroxifenil)propanonitrilo:

[0118] A una solución en agitación de 3-(3-metoxifenil)propanonitrilo (etapa A; 1,71 g; 10,6 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (20 ml) se le añadió BBr₃ (1 M en CH₂Cl₂; 5,32 g; 21,2 mmoles) a -78°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 horas y, a continuación, a 0 °C durante 4 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, se amortiguó con hielo, se extrajo con EtOAc (30 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó cuidadosamente con NaHCO₃ saturado y salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

15

Etapa C: Preparación de 3-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)propanonitrilo:

[0119] Una solución de 3-(3-hidroxifenil)propanonitrilo (etapa B; 1,25 g; 8,5 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD; 1,87 g; 9,26 mmoles) en THF seco (10 ml) se añadió gota a gota a una solución de alcohol 2,6-dimetilbencilo (1,27 g, 9,3 mmoles) y trifenilfosfina (TPP; 2,43 g; 9,26 mmoles) en THF seco (30 ml) a 0°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 4 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, se diluyó con éter y se lavó con agua (2X). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

25

Etapa D: Preparación de 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1*H*-tetrazol

[0120] Una mezcla de 3-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)propanonitrilo (etapa C; 2,62 g; 9,9 mmoles), azida sódica (0,899 g; 13,8 mmoles) y cloruro de amonio (0,740 g; 13,8 mmoles) en DMF seca (20 ml) se calentó bajo atmósfera de argón a 90 °C durante 16 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, la mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (30 ml x 4). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (cloroformo:metanol 95:5 a 92,5: 7,5) para obtener un producto semisólido. El semisólido se agitó con acetato de etilo:hexano 1:2 (15 ml) durante 10 minutos, y se filtró para obtener el producto como un sólido de color blanco.

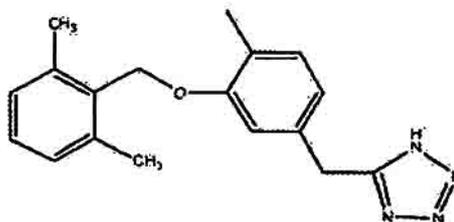
35

[0121] RMN ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO): 2,48 (s, 6H); 3,02 (t, 2H); 3,19 (t, 2H); 4,98 (s, 2H); 6,80-6,81 (d, 1H); 6,86-6,89 (m, 2H); 7,05-7,07 (d, 2H); 7,14-7,23 (m, 2H). EM: m/z 309,2 [M + H]⁺.

EJEMPLO 5

40

[0122]



45 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibencil)-1*H*-tetrazol

Etapa A: Preparación de 2-(3-hidroxi-4-metilfenil)acetónitrilo:

[0123] A una solución en agitación de 2-(3-metoxi-4-metilfenil)acetónitrilo (5 g, 31 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (20 ml) se le añadió BBr₃ (1 M en CH₂Cl₂; 10,02 g; 40 mmoles) gota a gota a -78°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 horas y, a continuación, a 0 °C durante 5 horas o

50

hasta que se consumió toda la materia prima, se amortiguó con hielo, se extrajo con EtOAc (30 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó cuidadosamente con NaHCO₃ saturado y salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de metilo 4:1→CH₂Cl₂:hex 1:1) para obtener el compuesto del título como un sólido blanquecino.

5

Etapa B: Preparación de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metilfenil)acetonitrilo:

[0124] A una solución en agitación de 2-(3-hidroxi-4-metilfenil)acetonitrilo (etapa A; 2,18 g; 14,8 mmoles), K₂CO₃ (2,66 g; 19,2 mmoles) en DMF seca (20 ml) se le añadió cloruro de 2,6-dimetilbencilo (2,97 g; 19,2 mmoles) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas, se diluyó con EtOAc (40 ml) y se lavó con agua (20 ml) y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título como un sólido de color blanco.

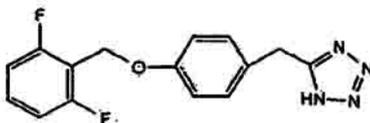
15 Etapa C: Preparación de 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metilbencil)-1*H*-tetrazol:

[0125] Una mezcla de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metilfenil)acetonitrilo (etapa B, 1,12 g; 4,2 mmoles), azida sódica (0,400 g; 6,1 mmoles) y cloruro de amonio (0,350 g; 6,5 mmoles) en DMF seca (15 ml) se calentó bajo atmósfera de argón a 90 °C durante 16 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, la mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (30 ml x 4). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida. El semisólido se agitó con acetato de etilo:hexano 1:2 (15 ml) durante 10 minutos y se filtró para obtener el producto como un sólido de color blanco.

25 **[0126]** RMN ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO): 2,0 (s, 3H); 2,35 (s, 6H); 4,27 (s, 2H); 5,0 (s, 2H); 6,73-6,75 (dd, 1H); 7,08-7,1 (m, 3H); 7,15-7,19 (m, 2H). EM: m/z 309,2 [M + H]⁺.

EJEMPLO 6

30 **[0127]**



5-(4-(2,6-difluorobenciloxi)bencil)-1*H*-tetrazol

35

Etapa A: Preparación de 2-(4-(2,6-difluorobenciloxi)fenil)acetonitrilo:

[0128] A una solución de 2-(4-hidroxifenil)acetonitrilo (5 g; 37,5 mmoles) y K₂CO₃ (6,74 g; 48,8 mmoles) en DMF seca (20 ml) se le añadió bromuro de 2,6-difluorobencilo (7,77 g; 37,5 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo sin procesar se obtuvo en EtOAc y se lavó con agua y salmuera. La capa acuosa se lavó una vez más con EtOAc. La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró para obtener el compuesto del título como un sólido blanco.

[0129] ¹H RMN (270 MHz, CDCl₃): 3,65 (s, 2H); 5,1 (s, 2H); 6,9-7,0 (m, 4H); 7,2-7,4 (m, 3H).

45

Etapa B: Preparación de 5-(4-(2,6-difluorobenciloxi)bencil)-1*H*-tetrazol:

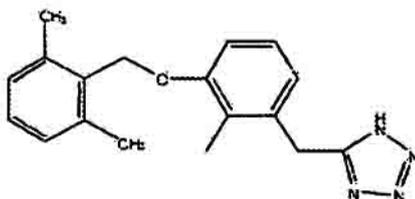
[0130] Una mezcla de 2-(4-(2,6-difluorobenciloxi)fenil)acetonitrilo (etapa A; 5 g; 19,3 mmoles), azida sódica (1,3 g; 20 mmoles) y cloruro amónico (1,06 g; 20 mmoles) en DMF seca (60 ml) se calentó a 90°C durante 16 horas. Se eliminó el solvente al vacío y el residuo oleoso se repartió entre EtOAc y agua (acidificada a pH 1 con HCl concentrado). La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró hasta obtener un semisólido de color marrón. La purificación se realizó mediante cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (cloroformo:metanol, 9:1) para obtener el compuesto del título como un sólido cremoso claro.

55 **[0131]** RMN ¹H (270 MHz, CDCl₃): 4,0 (s, 2H); 5,1 (s, 2H); 6,7-6,9 (m, 4H); 7,0 (d, 2H); 7,2 (m, 1H).

EJEMPLO 7

[0132]

5



5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbencil)-1H-tetrazol

10 Etapa A: Preparación de 3-hidroxi-2-metilbenzoato de etilo:

[0133] Una solución de ácido 3-hidroxi-2-metilbenzoico (5,04 g; 33,12 mmoles) y ácido p-toluensulfónico monohidrato (0,741 g; 3,89 mmoles) en etanol absoluto (150 ml) se calentó a reflujo durante 16 horas o hasta que se consumió toda la materia prima. La mezcla de reacción se concentró, se diluyó con EtOAc (30 ml) y se lavó con agua (20 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

Etapa B: Preparación de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbenzoato de etilo:

20 [0134] A una solución en agitación de 3-hidroxi-2-metilbenzoato de etilo (etapa A; 3,1 g; 17,22 mmoles), K₂CO₃ (3,09 g; 22,38 mmoles) en DMF seca (15 ml) se le añadió cloruro de 2,6-dimetilbencilo (3,19 g; 20,66 mmoles) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas, se diluyó con EtOAc (40 ml) y se lavó con agua (20 ml) y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 4:1) para obtener el compuesto del título como un sólido de color blanco.

Etapa C: Preparación de (3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilfenil)metanol:

30 [0135] A una solución de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbenzoato de etilo (etapa B; 5,94 g; 19,93 mmoles) THF seco (35 ml) se le añadió LiAlH₄ (1 M en THF; 0,832 g; 21,92 mmoles) gota a gota a 0°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, después, se amortiguó lentamente con HCl 0,1 N a 0°C y se añadió EtOAc (20 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se filtró y el precipitado se lavó con EtOAc (25 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con HCl 0,1N y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex: acetato de etilo 2:1) para obtener el compuesto del título.

Etapa D: Preparación de 1-(bromometil)-3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbenceno:

40 [0136] A una solución de (3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilfenil)metanol (etapa C; 3,68 g; 14,87 mmoles) y CBr₄ (5,25 g; 15,8 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (20 ml) se le añadió trifenilfosfina en porciones (4,14 g; 15,8 mmoles) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 4:1) para obtener el compuesto del título. El sólido se mantuvo al vacío durante 6 horas más hasta que se secó.

45 Etapa E: Preparación de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilfenil)acetonitrilo:

[0137] La solución de 1-(bromometil)-3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbenceno (etapa D; 4,28 g; 13,41 mmoles) y NaCN (0,789 g; 16,10 mmoles) en DMF seca (20 ml) se calentó a 120°C durante 3 horas, a continuación, se enfrió y diluyó con EtOAc (50 ml). La capa orgánica se lavó con agua (30 ml) y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 4:1) para obtener el compuesto del título.

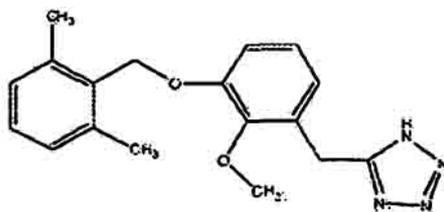
Etapa F: Preparación de 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbencil)-1*H*-tetrazol:

[0138] Una mezcla de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilfenil)acetonitrilo (etapa E; 2,70 g; 10,19 mmoles), azida sódica (0,795 g; 12,23 mmoles) y cloruro de amonio (0,653 g; 12,22 mmoles) en DMF seca (20 ml) se calentó 5 bajo atmósfera de argón a 90 °C durante 16 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, la mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (30 ml x 4). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (cloroformo:metanol 92,5:7,5) para obtener un producto semisólido. El semisólido se agitó con acetato de etilo:hexano 1:2 (15 ml) durante 10 minutos, y se filtró para obtener el producto como un sólido de color 10 blanco.

[0139] RMN ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO): 2,01 (s, 3H); 2,32 (s, 6H); 4,24 (s, 2H); 5,01 (s, 2H); 6,78-6,79 (dd, 1H); 7,06-7,08 (d, 2H); 7,12-7,19 (m, 3H).

15 EJEMPLO 8

[0140]



20

5-(3-(2,6)-dimetilbenciloxi)-2-metoxibencil)-1*H*-tetrazol

Etapa A: Preparación de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxibenzaldehído:

25 **[0141]** La solución de 3-hidroxi-2-metoxibenzaldehído (5,06 g; 32,7 mmoles), cloruro de 2,6-dimetilbencilo (5,04 g; 33,1 mmoles) y K₂CO₃ (4,78 g; 34,6 mmoles) en DMF seca (15 ml) se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón durante 16 horas, a continuación se diluyó con EtOAc (40 ml) y se lavó con agua (20 ml). La capa orgánica se concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:acetato de etilo 4:1) para obtener el compuesto del título como un sólido blanquecino.

30

Etapa B: Preparación de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxifenil)metanol:

[0142] A una solución de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxibenzaldehído (etapa B; 10,6 g; 32,7 mmoles) en THF seca (40 ml) se le añadió LiAlH₄ (1 M en THF; 0,95 g; 23,7 mmoles) gota a gota a 0°C bajo atmósfera de argón. 35 La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora o hasta que se consumió toda la materia prima, después, se amortiguó añadiendo agua lentamente, seguido de la adición de HCl 1 N (5 ml), agua (10 ml) y EtOAc (20 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se concentró y se pasó a través de una columna de gel de sílice usando acetato de etilo para obtener el compuesto del título como un sólido blanquecino.

40 Etapa C: Preparación de metanosulfonato de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxibencilo:

[0143] A una solución de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxifenil)metanol (etapa B; 9,5 g; 32,7 mmoles) y trietilamina (5,80 g; 57,4 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (100 ml) se le añadió cloruro de metanosulfonilo (3,5 ml; 45 mmoles) gota a gota a 0°C bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente 45 durante 6 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, se neutralizó con Na₂CO₃ al 10% frío y se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se concentró y purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (hex:cloruro de metileno 2:1) para obtener el compuesto del título como un aceite de color amarillo claro.

Etapa D: Preparación de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxifenil)acetonitrilo:

50

[0144] La solución de metanosulfonato de 3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxibencilo (etapa C; 8,8 g; 30,26 mmoles) y NaCN (1,60 g; 32,6 mmoles) en DMF seca (40 ml) se calentó a 85°C durante 18 horas, a continuación, se

enfrió y diluyó con EtOAc (50 ml). La capa orgánica se lavó con agua (30 ml), se concentró y se pasó a través de una columna de gel de sílice corta usando cloruro de metileno para obtener el compuesto del título como un sólido de color amarillo.

5 Etapa E: Preparación de 5-(3-(2,6-dimetilbencil)-1H-tetrazol

[0145] Una mezcla de 2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxifenil)acetonitrilo (etapa D; 3,2 g; 12,7 mmoles), azida sódica (0,86 g; 13,2 mmoles) y cloruro de amonio (0,696 g; 13,0 mmoles) en DMF seca (10 ml) se calentó bajo atmósfera de argón a 90 °C durante 16 horas o hasta que se consumió toda la materia prima, la mezcla de reacción
10 se enfrió, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en una columna de gel de sílice (cloroformo:metanol 9:1) para obtener un producto semisólido. El semisólido se agitó con acetato de etilo:hexano 1:2 (1,5 ml) durante 10 minutos y se filtró para obtener el producto como un sólido de color blanco.

[0146] RMN ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO): 2,33 (s, 6H); 3,5 (s, 3H); 4,21 (s, 2H); 5,04 (s, 2H); 6,83-6,85 (dd, 1H);
15 7,03-7,09 (m, 3H); 7,15-7,23 (m, 2H).

EJEMPLO 9: Ensayo de inhibición de URAT1

[0147] URAT1 (transportador de ácido úrico 1) se expresa en la membrana apical de los túbulos renales.
20 Media en la recaptación de ácido úrico desde la orina a la sangre. La inhibición de URAT1 induce un aumento de la excreción de ácido úrico en la orina y es, por tanto, un posible modo de acción de fármacos que reducen las concentraciones séricas de ácido úrico. Probenecid y benzbromarona, por ejemplo, se han usado a nivel clínico para el tratamiento de la gota y la hiperuricemia y ambos actúan sobre URAT1 reduciendo la recaptación de ácido úrico. No obstante, la benzbromarona se retiró del mercado debido a su hepatotoxicidad a través de mecanismos
25 independientes de URAT1, y el probenecid actúa sobre numerosas proteínas transportadoras, lo que tiene como resultado interacciones con diversos fármacos.

[0148] Un ensayo de URAT1 *in vitro* es útil para identificar los compuestos con posible actividad en la reducción del ácido úrico en suero. Un ensayo adecuado supone la transfección de células (p. ej., células renales
30 embrionarias humanas; «HEK») con un vector que codifica el URAT1 humano, seguido de la determinación de la capacidad de las células transfectadas para captar ácido úrico marcado radiactivamente. La actividad de los compuestos como inhibidores de URAT1 se evalúa mediante su capacidad para bloquear la captación de ácido úrico por las células transfectadas.

35 Compuestos de ensayo y compuestos químicos:

[0149] Benzbromarona (Sigma, N.º de cat. B5774). Probenecid (Sigma, N.º de cat. P8761). DMSO (Sigma, N.º de cat. D-2650)- [8-¹⁴C] Urato (50-60 mCi/mmoles: American Radio Chemicals, N.º de cat. ARC0513).

40 Subclonaje de hURAT1 en el vector de expresión:

[0150] El vector plasmídico pCMV6-XL5 que contiene el ADNc de hURAT1 (N.º de cat. SC 125624) y el vector de expresión pCMV6-Neo (N.º de cat. pCMVNEO) se obtuvieron de OriGene Technologies, Inc. El ADNc de hURAT1 de longitud completa se obtuvo a partir del vector pCMV6-XL5 y se subclonó en el vector de expresión pCMV6-Neo
45 para obtener el plásmido de expresión de hURAT1 pCMV6-hURAT1. Las secuencias se verificaron mediante secuenciación de ADN automática.

Cultivo celular, transfección de los plásmidos de expresión de URAT1 y establecimiento de células HEK que expresan hURAT1 de forma estable:

50

[0151] Las células renales embrionarias humanas 293 (HEK) (ATCC, N.º de cat. CRL-1573) se cultivaron en medio EMEM suplementado con SBF al 10% y L-glutamina 2 mM, y se incubaron a 37°C y CO₂ al 5%. Para los experimentos de transfección, las células se dispusieron en placas de 60 mm en 1 ml de medio por placa. Después de 18-24 horas de incubación, las células se transfectaron con el plásmido pCMV6-hURAT1 o el vector de expresión
55 pCMV6-Neo, usando el agente de transfección lipofectina siguiendo las instrucciones del fabricante (Invitrogen, N.º de cat. 18292). Tras la transfección se crecieron en medio EMEM durante 72 horas y, a continuación, añadiendo geneticina 1 mg/ml (GIBCO, N.º cat. 10131) se seleccionaron transfectantes estables que expresaban hURAT1 (denominadas a partir de ahora como células hURAT1-HEK) o células que tienen solo el vector de expresión pCMV6-Neo (denominadas a partir de ahora células mock-HEK [simuladas]) se verificaron usando procedimientos

de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR).

Ensayo de captación de [8-¹⁴C] Urato:

5 **[0152]** Las células hURAT1-HEK y las células mock-HEK se dispusieron en placas para cultivo celular de 24 pocillos recubiertas con poli-D-lisina (Becton Dickinson, N.º de cat. 354414) a una concentración de 3x10⁵ en medio EMEM y se incubaron durante la noche. Las soluciones de reacción que contiene [8-¹⁴C] urato (55 mCi/mmoles) a una concentración final de 50 µM se preparamos con o sin compuestos de ensayo en solución salina equilibrada de Hanks (HBSS) que contiene: gluconato sódico 125 mM, gluconato potásico 4,8 mM, calcio 1,3 mM, glucosa 5,6 mM, sulfato de magnesio 1,2 mM, KH₂PO₄ 1,2 mM y HEPES 25 mM (pH 7,4). Antes de iniciar el ensayo de captación, se eliminó el medio de cultivo y las células se incubaron durante 5 min en 0,6 ml de HBSS. Tras eliminar el HBSS, se añadieron las soluciones de reacción preparadas a cada pocillo y se incubaron durante 5 min a temperatura ambiente. A continuación se eliminó la solución de reacción, las células se lavaron dos veces con 0,6 ml de HBSS frío y se lisaron con 0,2 ml de NaOH 0,1 M durante 20 min. Los lisados celulares se transfirieron a los viales de centelleo que contenían 1 ml de líquido de centelleo (Opti Phase Super MIX. PerkinElmer, N.º de cat.: 1200-439) y la radioactividad se contó en el contador Microbeta (1450, Wallac Jet, PerkinElmer). Los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO y se añadió la misma concentración de DMSO a los pocillos de las células mock-HEK y de las células hURAT1-HEK que no contenían compuestos de ensayo. Para cada compuesto de ensayo, el ensayo de captación se realizó 2 veces y por triplicado. La captación de urato de las células para cada condición de ensayo se presentó como el porcentaje medio de inhibición en comparación con el control DMSO. Los valores de radioactividad obtenidos para los pocillos que contenían DMSO se consideraron como el 100% de captación de las células. Los datos de concentración - porcentaje de inhibición observados se ajustaron a un modelo de concentración-efecto sigmoidal, donde:

25
$$\% \text{ de inhibición} = (100 * \text{Conc.} \wedge \text{Pendiente}) / (\text{CI}_{50} \wedge \text{Pendiente} + \text{Conc.} \wedge \text{Pendiente})$$

[0153] La CI₅₀ y la pendiente estimadas con sus límites de confianza del 95% fueron determinadas mediante un análisis de regresión de mínimos cuadrados no lineal usando Data Analysis Toolbox' (MDL Information Systems, San Leandro, CA, EE. UU.).

30 **[0154]** Para la evaluación de la actividad de los compuestos como inhibidores de URAT1, el porcentaje de inhibición de la captación de ácido úrico se evaluó normalmente a una concentración de fármaco de 10 micromolar (tabla 1). Se probaron concentraciones de fármaco adicionales de algunos compuestos para determinar los valores de CI₅₀ (tabla 2). En este ejemplo, los compuestos no se probaron necesariamente de forma simultánea.

35 Tabla 1: Efectos inhibitorios de los compuestos de ensayo a la concentración de 10 µM sobre la captación de ¹⁴C urato en células hURAT1-HEK.

Compuesto de ensayo	% de inhibición	% de	DE	D.T.
EB	90,0			0,29
EC	95,2			0,67
ED	96			0,7
EF	92			0,6
EG	95,57			0,39
BD	56,57			2,64
EH	80,00			1,29
EI	44,00			1,53

Tabla 2:

Compuesto	Valor de CI50 (µM)
EB	0,93
EC	0,24
ED	0,25
EF	0,74
EG	0,13
Benzbromarona	0,75
Probenecid	174

EJEMPLO 10: Estudio farmacocinético de dosis única oral en ratón con el compuesto EB.

[0155] Determinación del perfil plasmático del compuesto EB tras una administración oral única mediante sonda a ratones machos:

[0156] Los compuestos de ensayo se resuspendieron en HPMC al 1% usando un homogeneizador de tejidos para minimizar las partículas y maximizar la uniformidad de la suspensión, y se conservaron a 4 °C. Las formulaciones se mezclaron bien justo antes de su administración. Se administró una dosis oral única mediante sonda de 100 mg/kg del compuesto EB o del vehículo (HPMC al 1%) a ratones machos. Tras la administración los ratones se colocaron en colectores de orina durante 5 horas y se recogió la producción de orina total durante las 5 horas. Las muestras se congelaron a -80 °C hasta su análisis usando CL/EM-EM.

[0157] A los puntos temporales de 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la dosis, se extrajeron muestras de sangre (0,4 ml) del seno orbital en tubos con EDTA K₃. Las muestras de sangre se centrifugaron antes de los 30 minutos de su extracción con refrigeración (2-8 °C) durante 7 minutos a 6000 rpm. Tras la centrifugación, el plasma se transfirió a un único tubo por animal y punto temporal e inmediatamente se congeló a -80 °C hasta su análisis usando CL/EM-EM.

[0158] Los datos se sometieron a análisis farmacocinético usando el programa WinNonlin Standard (v2.1, Pharsight Corporation) y EXCEL de Microsoft.

Protocolo:

A. Plasma

[0159]

1. Los ratones recibieron una única dosis oral mediante sonda del compuesto EB, 100 mg/kg, y se recogió el plasma en puntos temporales determinados.

2. El plasma se conservó a -80 °C hasta el día del análisis.

3. Las muestras se descongelaron en un baño a 37 °C durante 5 min y se agitaron a velocidad máxima durante 10 s.

4. El plasma de ratón, 0,1 ml, se mezcló con 0,2 ml de acetonitrilo, se agitó 1 min, se centrifugó a 400 rpm, 17000 g, a 4 °C durante 25 min.

5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE de 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex N.º AF0-3102-52), se inyectaron 13 microlitros y se resolvieron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8(2) de 150 x 3mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º Serie: 259151-7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 100 bares, temperatura de columna 37 °C, procedimiento 406975M1, Secuencia 1029-08A, Agilent 1100 CL-EM.

[0160] Todas las muestras se desarrollaron por duplicado. Se registraron las absorbancias a 210 nm y los espectrogramas de ionización negativa y positiva.

B. Curva de calibración

[0161]

Etapa 1. El plasma de los animales «vehículo» (combinado), 0,095 ml, se mezcló con 0,005 ml de solución madre 20x del compuesto EB en metanol hasta obtener concentraciones de 500 microM, 250 microM, 125 microM, etc., del compuesto EB en plasma. Por ejemplo: 95 microlitros de plasma + 5 microlitros de compuesto EB 10 mM en metanol = 0,1 ml de plasma con compuesto EB 500 microM.

Etapa 2. Las muestras de la etapa 1 se agitaron durante 10 s a velocidad máxima.

Etapa 3. Se añadieron 0,2 ml de acetonitrilo a todas las muestras de la etapa 2 y todos los viales se agitaron a máxima velocidad durante 1 min.

Etapa 4. Todas las muestras de la etapa 3 se centrifugaron a 14000 rpm, 17000 g, a 4 °C durante 25 min.

5

Etapa 5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE, 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex, N.º AF0-3102-52). Se inyectaron 13 microlitros y se separaron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8(2) de 150 x 3 mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º serie: 259151-7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 100 bares, temperatura de la columna 37 °C, procedimiento 406975M1, Agilent 1100 CL-EM. Todas las muestras se desarrollaron por duplicado, absorbancias 210 nm y 230 nm, registros de espectrogramas de ionización negativa y positiva.

10

Condiciones de HPLC:

15

[0162]

Tabla 3. Gradiente de HPLC		
Tiempo Min	Solvente C %	Solvente D %
0	60	40
2	60	40
5,2	31	69
58	31	69
60	60	40
75	60	40
Solvente C: 0,1% de ácido fórmico en agua		
Solvente D: 0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol		

Resultados:

20

[0163] El compuesto EB se detectó fácilmente en el plasma de ratón. Los tiempos de retención y la masa se confirmaron en modos de ionización positivos y negativos. AGILENT CL-EM Secuencia 1029-08A.

«M-» = 279,2 100%,

25

«M+» = 281,2 100%.

Peso según la fórmula = 280. Tiempo de retención medio = 26,5 min.

Tabla 4. Concentración del compuesto EB en el plasma de animales individuales

N.º de muestra de plasma de ratón	Tiempo de sangrado (h)	Concentración del compuesto EB (µg/ml)
1	0	0
2	0	0
3	6	0
6	0,5	206,5
7	0,5	207,5
8	0,5	134,2
9	1	210
10	1	139,7
11	1	157,6
12	2	139,9
13	2	187,6
14	2	82,4
15	4	74,9
16	4	92,1
17	4	39,6
18	6	58,7
19	6	79,9
20	6	48
21	8	18,2
22	8	10,7
23	8	0
24	24	0
25	24	0
26	24	0

5

Tabla 5. Concentración del compuesto EB en el plasma, media. (Véase también la figura 3).

Tiempo (h)	Media (µg/ml)
0	0
0,5	183
1	169
2	137
4	69
6	62
8	10
24	3

AUC₀₋₂₄: 796 µg/ml
C_{máx}: 210 µg/ml

[0164] Componentes lineales en la representación semilogarítmica:

t_{1/2} (1-4h): 2,27

10

t_{1/2} (6-8h): 0,74

t_{1/2} (8-24h): 9,39

15 EJEMPLO 11: Estudio farmacocinético piloto de dosis única oral en rata con el compuesto EB.

[0165] Determinación del perfil plasmático del compuesto EB tras una administración mediante sonda oral simple a ratas macho.

[0166] El compuesto de ensayo se resuspenden en HPMC al 1% usando un homogeneizador de tejidos para minimizar las partículas y maximizar la uniformidad de la suspensión, y se conservaron a 4 °C. Las formulaciones se mezclaron bien justo antes de su administración. Se administró una dosis oral única mediante sonda de 100 mg/kg de compuesto de ensayo o de vehículo (HPMC al 1%) a ratas macho Sprague-Dawley. En los puntos temporales de las 0, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la dosis, se extrajeron muestras de sangre (0,4 ml) del seno orbital en tubos con EDTA K₃. Las muestras de sangre se centrifugaron antes de los 30 minutos de su extracción con refrigeración (2-8 °C) durante 7 minutos a 6000 rpm. Tras la centrifugación, el plasma se transfirió a un único tubo por animal y punto temporal e inmediatamente se congeló a -80 °C hasta su análisis usando CL/EM-EM. Los datos seriadados de tiempo de concentración en plasma se sometieron a análisis farmacocinético usando el programa WinNonlin Standard (v2.1. Pharsight Corporation) y EXCEL de Microsoft.

Protocolo:

15 A. Plasma

[0167]

1. Las ratas recibieron una única dosis oral mediante sonda de compuesto EB, 100 mg/kg, y se recogió el plasma en puntos temporales determinados.

2. El plasma se conservó a -80 °C hasta el día del análisis.

3. Las muestras se descongelaron en un baño a 37 °C durante 5 min y se agitaron a velocidad máxima durante 10 s.

4. El plasma de rata, 0,1 ml, se mezcló con 0,2 ml de acetonitrilo, se agitó 1 min y se centrifugó a 14000 rpm, 17000 g a 4 °C durante 23 min.

5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE de 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex N.º AF0-3102-52), se inyectaron 13 microlitros y se resolvieron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8 (2) de 150 x 3 mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º serie: 259151-7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 100 bares, temperatura de la columna 37 °C, procedimiento 406975M1, secuencia AGILENT 1015-08A. Agilent CL/EM 1100.

[0168] Todas las muestras se desarrollaron por duplicado. Se registraron las absorbancias a 210 nm y 230 nm y los espectrogramas de ionización negativa y positiva.

B. Curva de calibración

[0169]

Etapa 1. El plasma de los animales «vehículo» (combinado), 0,19 ml, se mezcló con 0,01 ml de solución madre 20x de PN2107 en metanol hasta obtener concentraciones de 500 microM, 250 microM, 125 microM, etc., del compuesto EB en plasma.

Por ejemplo: 190 microlitros de plasma + 10 microlitros del compuesto EB 10 mM en metanol = 0,2 ml de plasma con compuesto EB 500 microM.

Etapa 2. Las muestras de la etapa 1 se agitaron durante 10 s a velocidad máxima.

Etapa 3. Se añadieron 0,4 ml de acetonitrilo a todas las muestras de la etapa 2 y todos los viales se agitaron a máxima velocidad durante 1 min.

Etapa 4. Todas las muestras de la etapa 3 se centrifugaron a 14 000 rpm, 17 000 g, a 4 °C, durante 25 min.

Etapa 5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE de 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex N.º AF0-3102-52), se inyectaron 13 microlitros y se separaron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8(2) de 150 x 3 mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º serie: 259151-

7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 100 bares, temperatura de la columna 37 °C.

[0170] Todas las muestras se desarrollaron por duplicado. Se registraron las absorbancias a 210 nm y 230 nm y los espectrogramas de ionización negativa y positiva.

Tabla 6. Condiciones de HPLC

Gradiente de HPLC		
tiempo min	solvente C %	solvente D %
0	60	40
2	60	40
52	31	69
58	31	69
60	60	40
75	60	40
Solvente C: 0,1% de ácido fórmico en agua		
Solvente D: 0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol		

Resultados:

10

[0171]

1. La curva de calibración se realizó con un R^2 ajustado a linealidad = 0,9994 (figura 4).

15 2. El compuesto EB se detectaba fácilmente en el plasma de ratas. Los tiempos de retención y la masa se confirmaron en modos de ionización positivos y negativos.

«M-» = 279,2 100%.

20 «M+» = 281,2 100%.

Peso según la fórmula = 280. Tiempo de retención medio = 26,5 min.

[0172] En la Tabla 7 se recogen los datos sin procesar y los cálculos.

25

En la Tabla 8 se recogen las concentraciones de compuestos en el plasma.

Tabla 7.					
N.º de animal	Tiempo de sangrado	Compuesto EB			Concentr. en plasma, microM
		Área del pico a 210 nm			
		experimento 1	experimento 2	Media	
rata 1 A	15 min	5588	5530	5559	159
rata 1 B	2 h	7110	7168	7139	206
rata 1 C	8 h	7040	6968	7004	202
rata 2 A	15 min	6446	6363	6404,5	184
rata 2 B	2 h	2699	2710	2704,5	75
rata 2 C	8 h	2581	2563	2572	72
rata 3 A	30 min	1382	1413	1397,5	37
rata 3 B	4 h	923	960	941,5	24
rata 3 C	24 h	153	103	128	0
rata 4 A	30 min	4433	4328	4380,5	125
rata 4 B	4 h	3944	3980	3962	112
rata 4 C	24 h	715	723	719	17
rata 5 A	1 h	13094	13441	13267,5	386
rata 5 B	6 h	1028	1022	1025	26
rata 6 A	1 h	3636	3633	3634,5	103
rata 6 B	6 h	3243	3298	3270,5	92

5

Tabla 8.		
Rata, macho, Sprague-Dowley, dosis oral única con sonda, compuesto EB 100 mg/kg		
Animal N.º	Tiempo de extracción de sangre	Compuesto EB, peso según fórmula 280
		Concentración en plasma, microM
rata 1	15 min	159
rata 1	2 h	206
rata 1	8 h	202
rata 2	15 min	184
rata 2	2 h	75
rata 2	8 h	72
rata 3	30 min	37
rata 3	4 h	24
rata 3	24 h	0
rata 4	30 min	125
rata 4	4 h	112
rata 4	24	17
rata 5	1 h	386
rata 5	6 h	26
rata 6	1 h	103
rata 9	6 h	92

Tabla 9. Concentraciones del compuesto EB, medias. (Véase también la figura 5).

Tiempo	Compuesto EB μM	Compuesto EB $\mu\text{g/ml}$
0	0	0
0,25	171,5	48,02
0,5	81,0	22,68
1	244,5	68,46
2	140,5	39,34
4	68,0	19,04
6	59,0	16,52
8	137,0	38,36
24	8,5	2,38
$T_{1/2}$ del compuesto EB = 3,99 h AUC ₀₋₂₄ del compuesto EB = 566 $\mu\text{g/ml} \cdot \text{h}$ $C_{\text{máx}}$ del compuesto EB = 108,08 $\mu\text{g/ml}$.		

5 EJEMPLO 12: Estudio farmacocinético piloto de dosis única oral en rata con el compuesto EC.

[0173] Determinación del perfil plasmático del compuesto EC tras una administración mediante sonda oral simple a ratas macho.

10 **[0174]** El compuesto de ensayo se resuspende en HPMC al 1% usando un homogeneizador de tejidos para minimizar las partículas y maximizar la uniformidad de la suspensión, y se conservaron a 4°C. Las formulaciones se mezclaron bien justo antes de su administración. Se administró una dosis oral única mediante sonda de 100 mg/kg del compuesto de ensayo o del vehículo (HPMC al 1%) a ratas macho Sprague-Dawley. En los puntos temporales de 0,1, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de dosis, se extrajeron muestras de sangre (0,4 ml) del seno orbital en tubos con EDTA K₃. Las muestras de sangre se centrifugaron antes de 36 minutos desde su extracción con refrigeración (2-8 °C) durante 7 minutos a 6000 rpm. Tras la centrifugación, el plasma se transfirió a un único tubo por animal y punto temporal y se congeló inmediatamente a -80 °C hasta su análisis usando CL/EM-EM. Los datos seriados de tiempo de concentración en plasma se sometieron a análisis farmacocinéticos usando el programa WinNonlin Standard (v2.1, Pharsight Corporation) and Microsoft EXCEL.

20

Protocolo:

A. Plasma

25 **[0175]**

1. Las ratas recibieron una única dosis oral mediante sonda de compuesto EC, 100 mg/kg y se recogieron muestras de plasma a determinados puntos temporales.

30 2. El plasma se conservó a -80 °C hasta el día del análisis.

3. Las muestras se descongelaron en un baño a 37 °C durante 5 min y se agitaron a velocidad máxima durante 10 s.

4. El plasma de rata, 0,1 ml, se mezcló con 0,2 ml de acetonitrilo, se agitó 1 min, se centrifugó a 14 000 rpm, 17 000 g a 4 °C durante 25 min.

5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE de 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex N.º AF0-3102-52), se inyectaron 15 microlitros y se resolvieron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8(2) de 150 x 3 mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º serie: 259151-7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 107 bares, temperatura de la columna 37 °C, procedimiento 406975MI, secuencia AGILENT 0226-09A, Agilent 1100 CL-EM.

[0176] Todas las muestras se desarrollaron por duplicado. Se registraron las absorbancias a 210 nm y 230 nm

y los espectrogramas de ionización negativa y positiva.

B. Curva de calibración

5 [0177]

Etapa 1. El plasma de los animales "vehículo" (combinado), 0,19 ml, se mezcló con 0,01 ml de solución madre 20x del compuesto EC en metanol hasta obtener concentraciones de 500 microM, 250 microM, 125 microM, concentraciones del compuesto EC en plasma.

10

Por ejemplo: 190 microlitros de plasma + 10 microlitros de compuesto EC 10 mM en metanol = 0,2 ml de plasma con compuesto EC 500 microM.

Etapa 2. Las muestras de la etapa 1 se agitaron durante 10 s a velocidad máxima.

15

Etapa 3. Se añadieron 0,4 ml de acetonitrilo a todas las muestras de la etapa 2 y todos los viales se agitaron a máxima velocidad durante 1 min.

Etapa 4. Todas las muestras de la etapa 3 se centrifugaron a 14 000 rpm, 17 000g, a 4 °C durante 25 min.

20

Etapa 5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE de 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex N.º AF0-3102-52), se inyectaron 15 microlitros y se resolvieron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8(2) de 150 x 3 mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º serie: 259151-7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 107 bares, temperatura de la columna 37 °C.

25

[0178] Todas las muestras se desarrollaron por duplicado. Se registraron las absorbancias a 210 nm y 230 nm y los espectrogramas de ionización negativa y positiva.

30

Tabla 10. Condiciones de HPLC

Gradiente de HPLC		
tiempo (min)	solvente C %	solvente D %
0	60	40
2	60	40
52	31	69
58	31	69
60	60	40
75	60	40
Solvente C: 0,1% de ácido fórmico en agua Solvente D: 0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol		

Resultados:

35 [0179]

1. La curva de calibración se realizó con un R² ajustada a linealidad = 0,9984 (véase la figura 6).

2. El compuesto EC se detectó fácilmente en el plasma. Los tiempos de retención y la masa se confirmaron en modos de ionización positivos y negativos. (véase la figura 7).

40

«M-» = 293,2 100%, 527,265%

«M+» = 295,2 100%, Peso según la fórmula = 294. Tiempo de retención medio = 23 min.

45

Tabla 11. AGILENT CL-EM Secuencia 0226-09A					
N.º de plasma de rata	Tiempo de sangrado (h)	Compuesto ED PF 294			Concentración en plasma, microM
		Área del pico a 210 nm			
		experimento 1	experimento 2	Media	
7-a	0,25	2012	1993	2002,5	67
7-b	2	979	963	971	29
7-c	8	3059	3061	3060	107
8-a	0,25	3263	3252	3257,5	114
8-b	2	19470	10416	10443	384
8-c	8	7201	7180	7190,5	262
9-a	0,5	1401	1405	1403	45
9-b	4	1156	1134	1145	35
9-c	24	0	0	0	0
10-a	0,5	864	862	863	25
10-b	4	495	509	502	11
10-c	24	147	170	158,5	0
11-a	1	661	650	655,5	17
11-b	6	2479	2471	2475	85
12-a	1	6137	6119	6128	222
12-b	6	2119	2167	2143	73
12-c	6	1846	1865	1855,5	62

Tabla 12. Concentración del compuesto EC en el plasma de rata.						
Tiempo de extracción (h)	1 ^{er} sangrado	2 ^o sangrado	3 ^{er} sangrado	Microgramos de media	Microgramos de media/ml	C máx
0,25	67	114		90,5	27	
0,5	45	25		35	10	
1	17	222		119,5	35	
2	29	384		206,5	61	
4	35	11		23	7	
6	85	73	62	73,33333	22	
8	107	262		184,5	54	
24	0	0		0	0	

Tabla 13.

Concentración del compuesto EC en el plasma de rata.	
Tiempo de extracción (h)	Microgramos de media/ml
0	0
0,25	27
0,5	10
1	35
2	61
4	7
6	22
8	54
24	0
Cmáx del compuesto EC =61 (µg/ml) AUC del compuesto EC 0-24 =672,3 (µg*h/ml)	

EJEMPLO 13: Estudio farmacocinético piloto de dosis única oral en rata con el compuesto EG.

5

[0180] Determinación del perfil plasmático del compuesto EG tras una administración oral única mediante sonda a ratas macho.

[0181] El compuesto de ensayo se resuspendió en HPMC al 1% usando un homogeneizador de tejidos para minimizar las partículas y maximizar la uniformidad de la suspensión, y se conservó a 4°C. Las formulaciones se mezclaron bien justo antes de su administración. Se administró una dosis oral única mediante sonda de 100 mg/kg del compuesto de ensayo o del vehículo (HPMC al 1%) a ratas macho Sprague-Dawley. En los puntos temporales de las 0, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la dosis, se extrajeron muestras de sangre (0,4 ml) del seno orbital en tubos con EDTA K₃. Las muestras de sangre se centrifugaron antes de los 30 minutos de su extracción con refrigeración (2-8°C) durante 7 minutos a 6000 rpm. Tras la centrifugación, el plasma se transfirió a un único tubo por animal y punto temporal e inmediatamente se congeló a -80°C hasta su análisis usando CL/EM-EM. Los datos seriados de tiempo de concentración en plasma se sometieron a análisis farmacocinético usando los programas WinNonlin Standard (v2.1, Pharsight Corporation) y EXCEL de Microsoft.

20 Protocolo:

A. Plasma

25 **[0182]**

1. Las ratas recibieron una dosis oral única mediante sonda del compuesto EG, 100 mg/kg y se recogió el plasma en puntos temporales determinados.
2. El plasma se conservó a -80 °C hasta el día del análisis.
3. Las muestras se descongelaron en un baño a 37°C durante 5 min y se agitaron a velocidad máxima durante 10 s.
4. El plasma de rata, 0,1 ml, se mezcló con 0,2 ml de acetonitrilo, se agitó 1 min y se centrifugó a 14 000 rpm, 17 000 g a 4 °C durante 25 min.
5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE de 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex N.º AF0-3102-52), se inyectaron 15 microlitros y se resolvieron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8(2) de 150 x 3 mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º serie: 259151-7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 107 bares, temperatura de la columna 37 °C, procedimiento 406975M1, Secuencia 1029-08A, Agilent 1100 CL-EM.

40

[0183] Todas las muestras se desarrollaron por duplicado. Se registraron las absorbancias a 210 nm y 230 nm y los espectrogramas de ionización negativa y positiva.

B. Curva de calibración

5

[0184]

Etapa 1: El plasma de los animales «vehículo» (combinado), 0,19 ml, se mezcló con 0,01 ml de solución madre 20x del compuesto EG en metanol hasta obtener concentraciones de 500 microM, 250 microM, 125 microM, etc. del compuesto EG en plasma.

Por ejemplo: 190 microlitros de plasma + 10 microlitros del compuesto EG 10 mM en metanol = 0,2 ml de plasma con compuesto EG 500 microM.

15 Etapa 2. Las muestras de la etapa 1 se agitaron durante 10 s a velocidad máxima.

Etapa 3. Se añadieron 0,4 ml de acetonitrilo a todas las muestras de la etapa 2 y todos los viales se agitaron a máxima velocidad durante 1 min.

20 Etapa 4. Todas las muestras de la etapa 3 se centrifugaron a 14 000 rpm, 17 000g, a 4 °C, durante 25 min.

Etapa 5. Los sobrenadantes se filtraron a través de un filtro de jeringa de membrana de PTFE de 4 mm y 0,45 micrómetros (Phenomenex N.º AF0-3102-52), se inyectaron 15 microlitros y se resolvieron en una columna en fase inversa Luna 3 micrómetros, 100A de poro, C8(2) de 150 x 3 mm (Phenomenex N.º 00F-4248-YO, N.º serie: 259151-7) en gradiente lineal de 50 min del 40 al 69% de (0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol) a 0,25 ml/min, 107 bares, temperatura de la columna 37 °C.

[0185] Todas las muestras se desarrollaron por duplicado. Se registraron las absorbancias a 210 nm y 230 nm y los espectrogramas de ionización negativa y positiva.

30

Tabla 14. Condiciones de HPLC

Gradiente de HPLC		
tiempo (min)	solvente C %	solvente D %
0	60	40
2	60	40
52	31	69
58	31	69
60	60	40
75	60	40
Solvente: 0,1% de ácido fórmico en agua Solvente D: 0,1% de ácido fórmico, 89,9% de acetonitrilo, 10% de metanol		

Resultados:

35

[0186]

1. La curva de calibración se realizó con un R² ajustada a linealidad = 0,9997 (véase la figura 8).

40 2. El compuesto EG se detectó fácilmente en plasma. Los tiempos de retención y la masa se confirmaron en modos de ionización positivos y negativos (véase la figura 9).

«M-» = 307,2 100%.

45 «M+» = 309,2 100%, Peso según fórmula = 308, Tiempo de retención medio = 30 min.

Datos sin procesar y cálculos.

[0187]

Tabla 15. Concentración del compuesto EG en el plasma de rata.					
Compuesto EG		Compuesto EG, peso según fórmula 308			
N.º de plasma de rata	Tiempo de sangrado (h)	Área del pico a 210 nm			Concentr. en plasma, microM
		experimento 1	experimento 2	Media	
13-a	0,25	1484	1410	1447	27
13-b	2	2799	2739	2759	50
13-c	8	172	191	181,5	5
14-a	0,25	1023	992	1007,5	19
14-b	2	1390	1362	1376	25
14-c	8	989	1029	1009	19
15-a	0,5	1533	1596	1564,5	29
15-b	4	702	764	733	14
15-c	24	0	0	0	2
16-a	0,5	966	979	972,5	18
16-b	4	1234	1206	1220	23
16-c	24	0	0	0	0
17-a	1	5424	5478	5451	101
17-b	6	520	472	496	10
18-a	1	2364	2322	2343	42
18-b	6	:887	937	912	17

Tabla 16. Concentración del compuesto EG en el plasma de rata.					C máx
Tiempo de recogida (h)	1 ^{er} sangrado	2 ^o sangrado	Media de microgramos	Media de microgramos/ml	
0,25	27	19	23	7	
0,5	29	18	24	7	
1	101	42	72	22	
2	25	50	38	12	
4	14	23	19	6	
6	10	17	14	4	
8	5	19	12	4	
24	2	0	1	0	

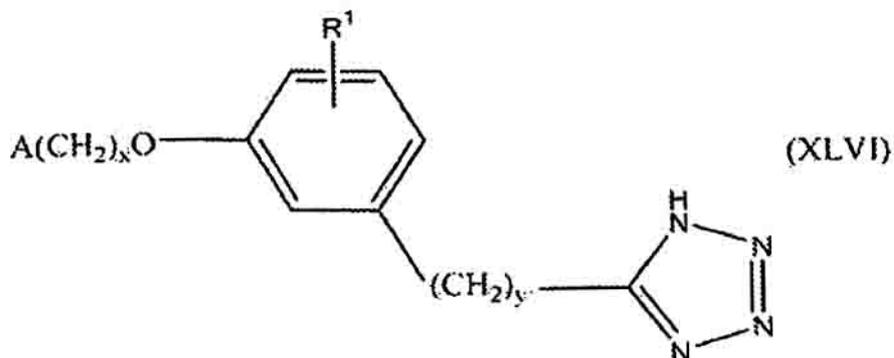
5

Tabla 17.

Concentración del compuesto EG en el plasma de rata.	
Tiempo de extracción (h)	Media de microgramos/ml
0	0
0,25	7
0,5	7
1	22
2	12
4	6
6	4
8	4
24	0
C _{máx} del compuesto EG PF308 = 22 (µg/ml) AUC ₈₋₂₄ del compuesto EG PF308= 94,9 (µg*h/ml)	

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula XLVI



5

donde

x es 1 o 2;

10

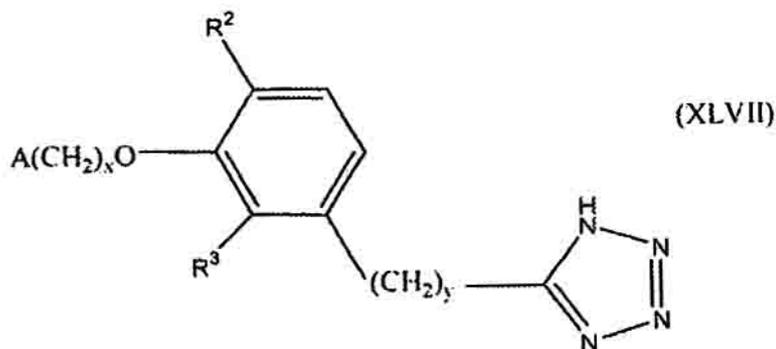
y es 0, 1, 2 o 3,

R¹ se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino; y

15

A es 2,6-dimetilfenilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, representado por la fórmula XLVII



20

donde

x es 1 o 2;

25

y es 0, 1, 2 o 3

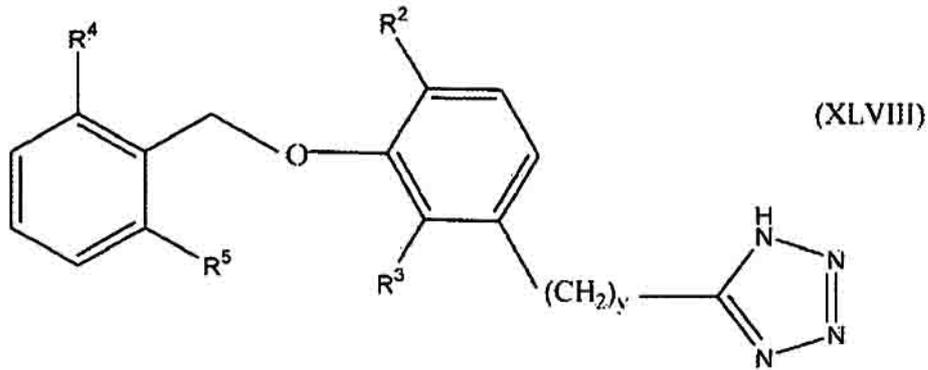
uno de R² y R³ es hidrógeno y el otro se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino; y

30

A es 2,6-dimetilfenilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, donde x es 1.

4. El compuesto de la reivindicación 3, representado por la fórmula XLVIII



donde

5 y es 0, 1 o 2;

uno de R^2 y R^3 es hidrógeno y el otro se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino; y

10 R^1 es metilo y R^3 es metilo.

5. El compuesto de la reivindicación 4 donde R^3 es hidrógeno; R^2 se selecciona a partir del grupo compuesto por hidrógeno, metilo y metoxi:

15 preferiblemente donde el compuesto se selecciona entre el grupo compuesto por:

5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)-1H-tetrazol;

20 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)bencil)-1H-tetrazol;

5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metoxibencil)-1H-tetrazol;

5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenetil)-1H-tetrazol y

25 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-4-metilbencil)-1H-tetrazol.

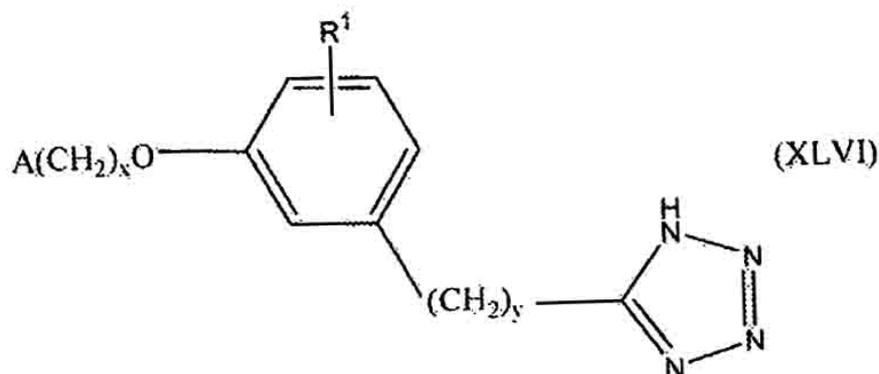
6. El compuesto de la reivindicación 4 seleccionado entre el grupo compuesto por:

30 5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metilbencil)-1H-tetrazol y

5-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)-2-metoxibencil)-1H-tetrazol.

7. Un compuesto representado por la fórmula XLVI para su uso en la reducción de la concentración de ácido úrico en la sangre de un sujeto mamífero o en el aumento de su excreción de ácido úrico.

35



donde

5 x es 1 o 2;

y es 0, 1, 2 o 3;

R¹ se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxilo, alcoxi con
10 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino; y

A es fenilo, sin sustituir o sustituido por uno, dos o tres grupos seleccionados entre el grupo compuesto por halo, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, perfluometilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono y perfluorometoxi.

15 8. El compuesto para el uso de la reivindicación 7, en el que el compuesto está representado por el compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

9. Un compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en el que dicho compuesto está en la forma de una composición farmacéutica.

20

10. El compuesto para el uso de la reivindicación 7 o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 9, en el que el uso tiene como resultado el tratamiento o prevención de una afección seleccionada entre el grupo compuesto por gota, hiperuricemia, niveles elevados de ácido úrico que no alcanzan los niveles que habitualmente justifican un diagnóstico de hiperuricemia, disfunción renal, cálculos renales, enfermedad
25 cardiovascular, riesgo de desarrollo de enfermedad cardiovascular, síndrome de lisis tumoral, deterioro cognitivo, hipertensión arterial idiopática de aparición temprana e inflamación inducida por *Plasmodium falciparum*.

11. El compuesto para el uso de la reivindicación 7 o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 9, en el que el compuesto se administra en combinación con uno o más fármacos distintos reductores
30 de ácido úrico en una cantidad combinada eficaz para reducir la concentración de ácido úrico en la sangre del sujeto o aumentar su excreción de ácido úrico;

preferiblemente, en el que el otro fármaco reductor de ácido úrico se selecciona entre el grupo compuesto por un inhibidor de la xantina oxidasa, un agente uricosúrico, un inhibidor del transportador de urato 1, una uricasa y una
35 estatina;

preferiblemente, en el que el otro fármaco reductor de ácido úrico se administra en una cantidad que es inferior a la dosis terapéutica habitual cuando se administra solo;

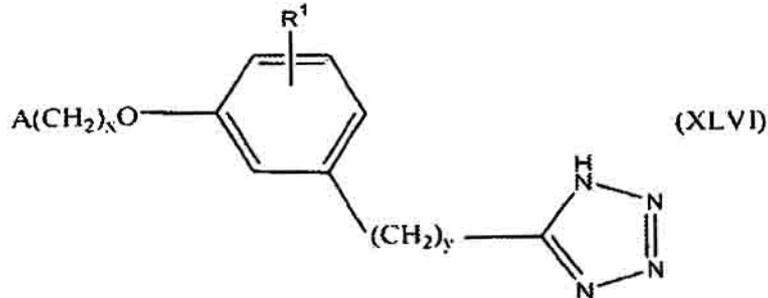
40 preferiblemente, en el que el compuesto y el uno o más fármacos distintos reductores de ácido úrico se mezclan en forma de mezcla o

preferiblemente, en el que el compuesto y el uno o más fármacos distintos reductores de ácido úrico no se mezclan en forma de mezcla.

45

12. Uso de un compuesto representado por la fórmula XLVI para la fabricación de un medicamento para

reducir la concentración de ácido úrico en la sangre de un sujeto mamífero o aumentar su excreción de ácido úrico.



5 donde

x es 1 o 2;

y es 0, 1, 2 o 3,

10

R¹ se selecciona entre el grupo compuesto por hidrógeno, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, hidroxilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono, fluoro, cloro, bromo y amino; y

A es fenilo, sin sustituir o sustituido por uno, dos o tres grupos seleccionados entre el grupo compuesto por halo, alquilo con 1 o 2 átomos de carbono, perfluometilo, alcoxi con 1 o 2 átomos de carbono y perfluorometoxi.

15 13. El uso de la reivindicación 12, en el que el compuesto está representado por el compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

20 14. El uso de la reivindicación 12, en el que se selecciona una cantidad de modo que la administración del medicamento a un sujeto mamífero tiene como resultado el tratamiento o prevención de una afección seleccionada entre el grupo compuesto por gota, hiperuricemia, niveles elevados de ácido úrico que no alcanzan los niveles que habitualmente justifican un diagnóstico de hiperuricemia, insuficiencia renal, cálculos renales, enfermedad cardiovascular, riesgo de desarrollo de enfermedad cardiovascular, síndrome de lisis tumoral, deterioro cognitivo, hipertensión arterial idiopática de aparición temprana e inflamación inducida por *Plasmodium falciparum*.

30 15. El uso de la reivindicación 14, en el que el medicamento se formula para su administración en combinación con uno o más fármacos distintos reductores de ácido úrico en una cantidad combinada eficaz para reducir la concentración de ácido úrico en la sangre del sujeto o aumentar su excreción de ácido úrico;

preferiblemente, en el que el otro fármaco reductor de ácido úrico se selecciona entre el grupo compuesto por un inhibidor de la xantina oxidasa, un agente uricosúrico, un inhibidor del transportador de urato -1, una uricasa y una estatina; o

35 preferiblemente, en el que el otro fármaco reductor de ácido úrico se administra en una cantidad que es menor a la dosis terapéutica habitual cuando se administra solo; o

preferiblemente, en el que el medicamento comprende el compuesto y el uno o más fármacos distintos reductores de ácido úrico se mezclan en forma de mezcla; o

40

preferiblemente, en el que el compuesto y el uno o más fármacos distintos reductores de ácido úrico no se mezclan en forma de mezcla.

45 16. El compuesto o composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 o su uso según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15.

17. El compuesto o composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 o su uso según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15 donde el sujeto es un humano.

Captación de ¹⁴C-urato (cpm)

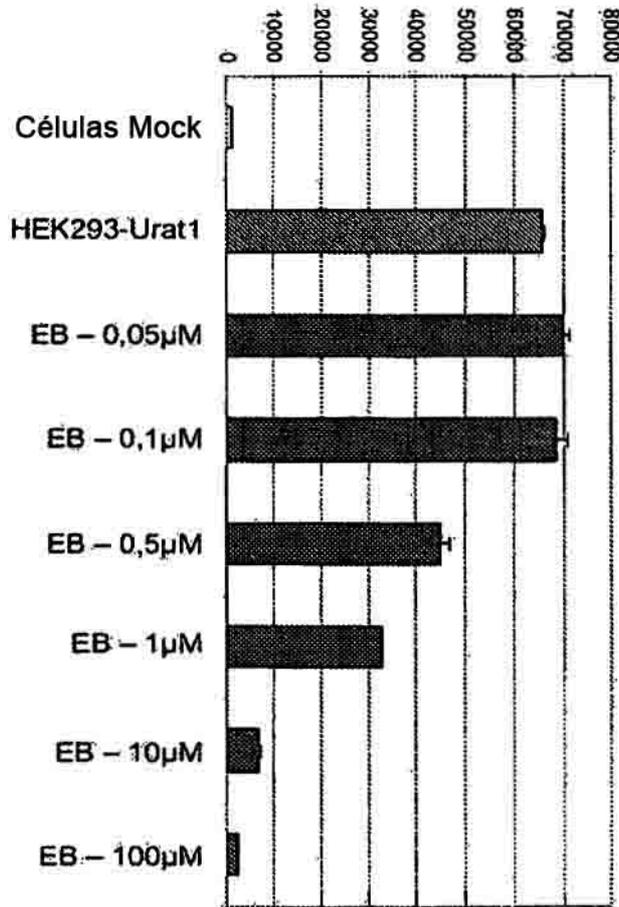


Figura 1

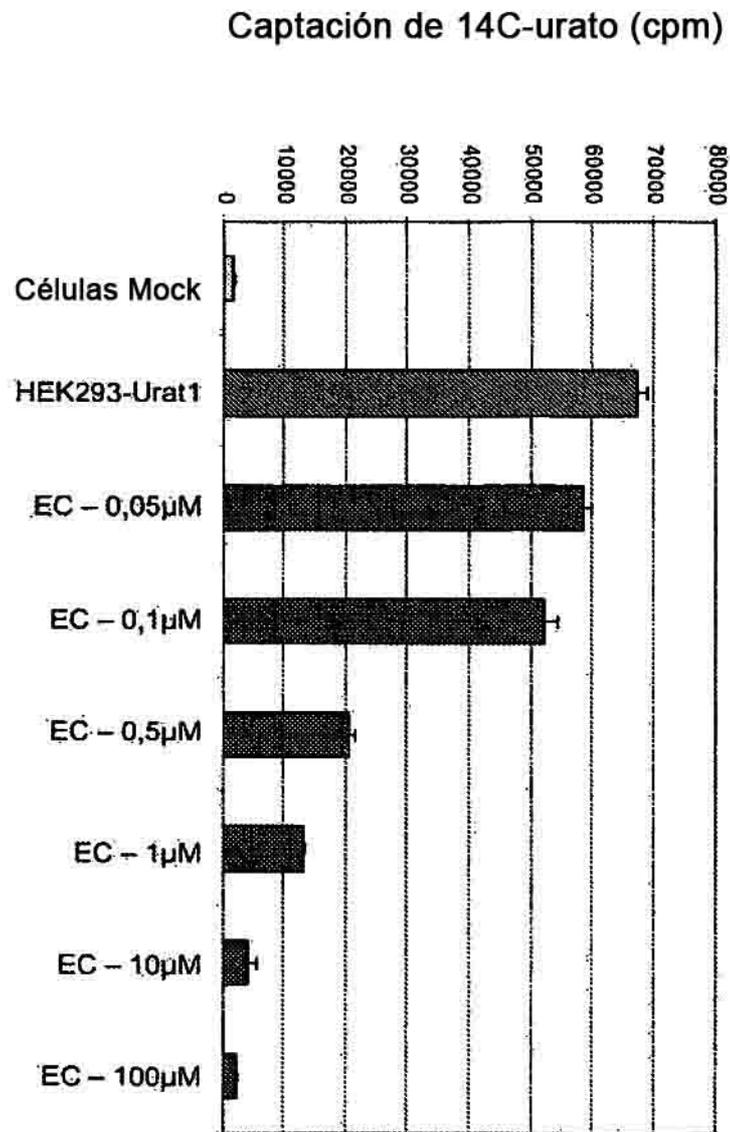


Figura 2

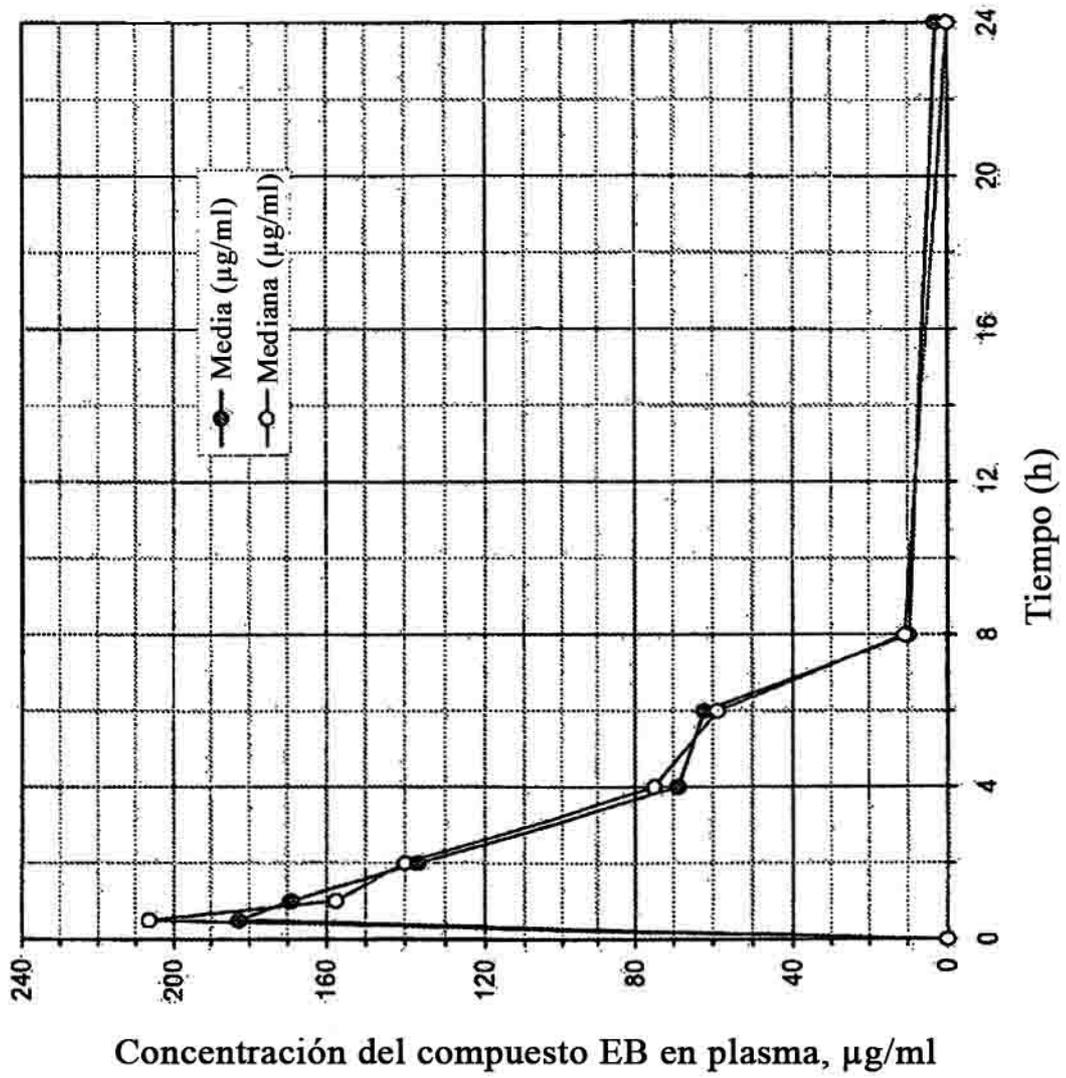


Figura 3

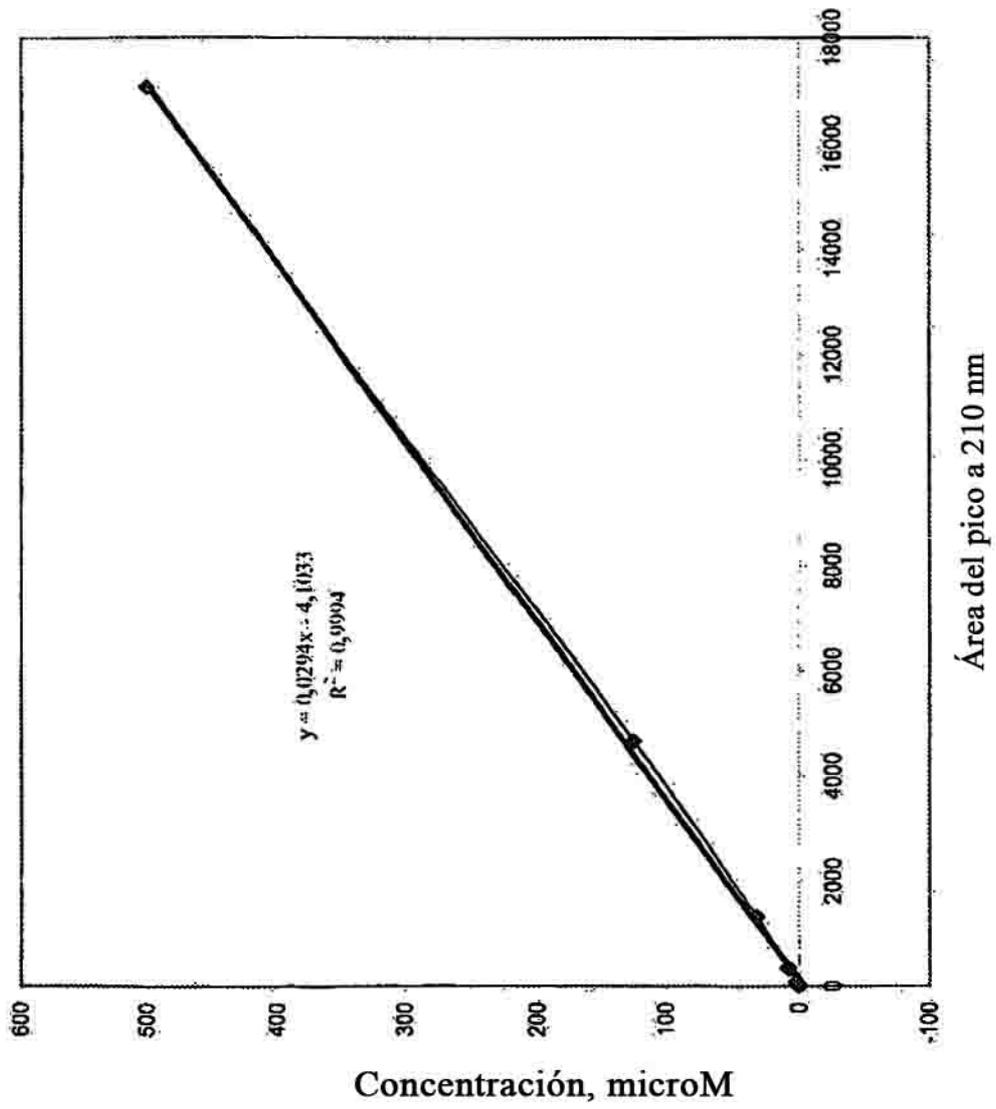


Figura 4

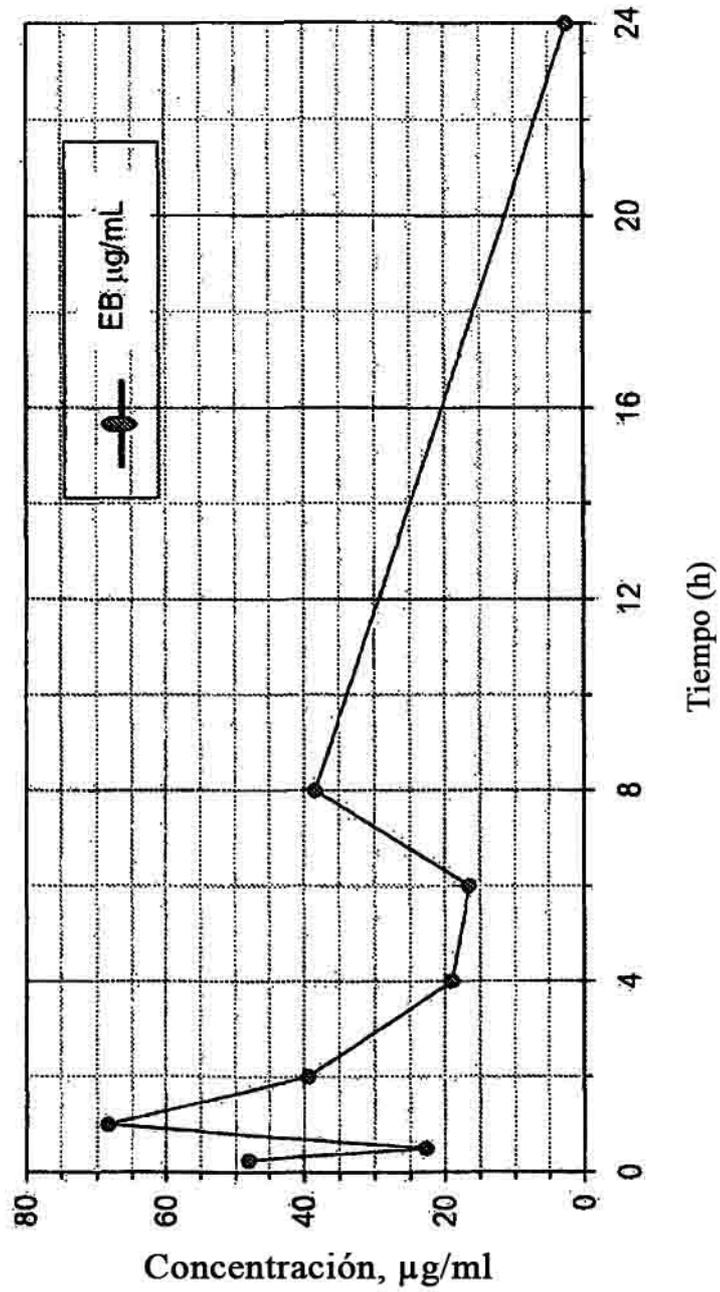


Figura 5

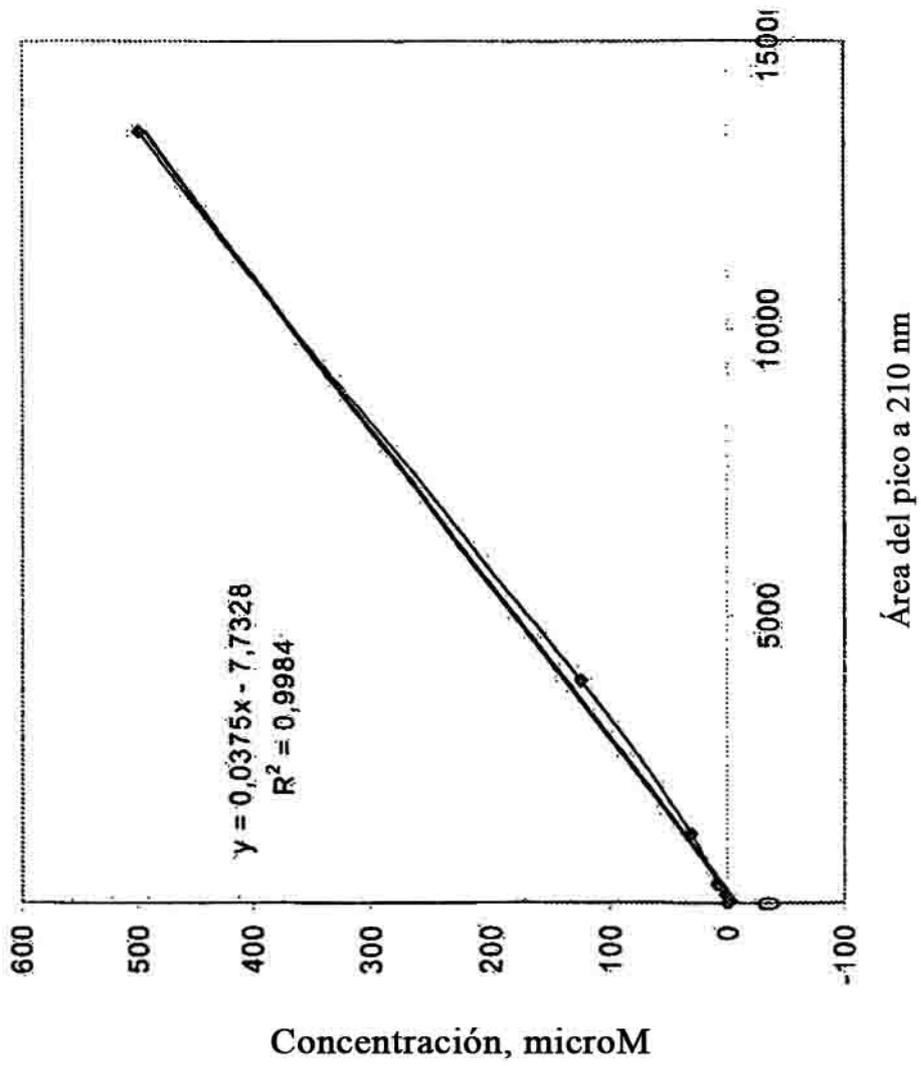


Figura 6

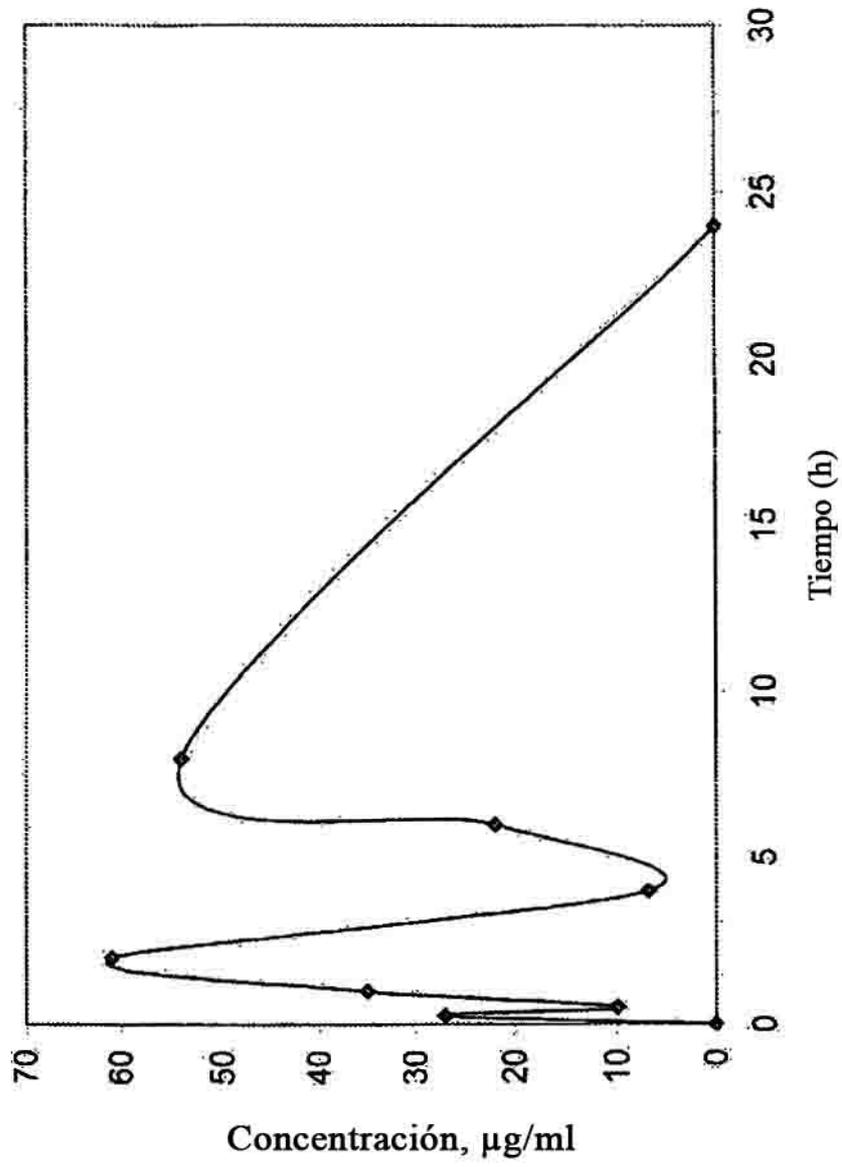


Figura 7

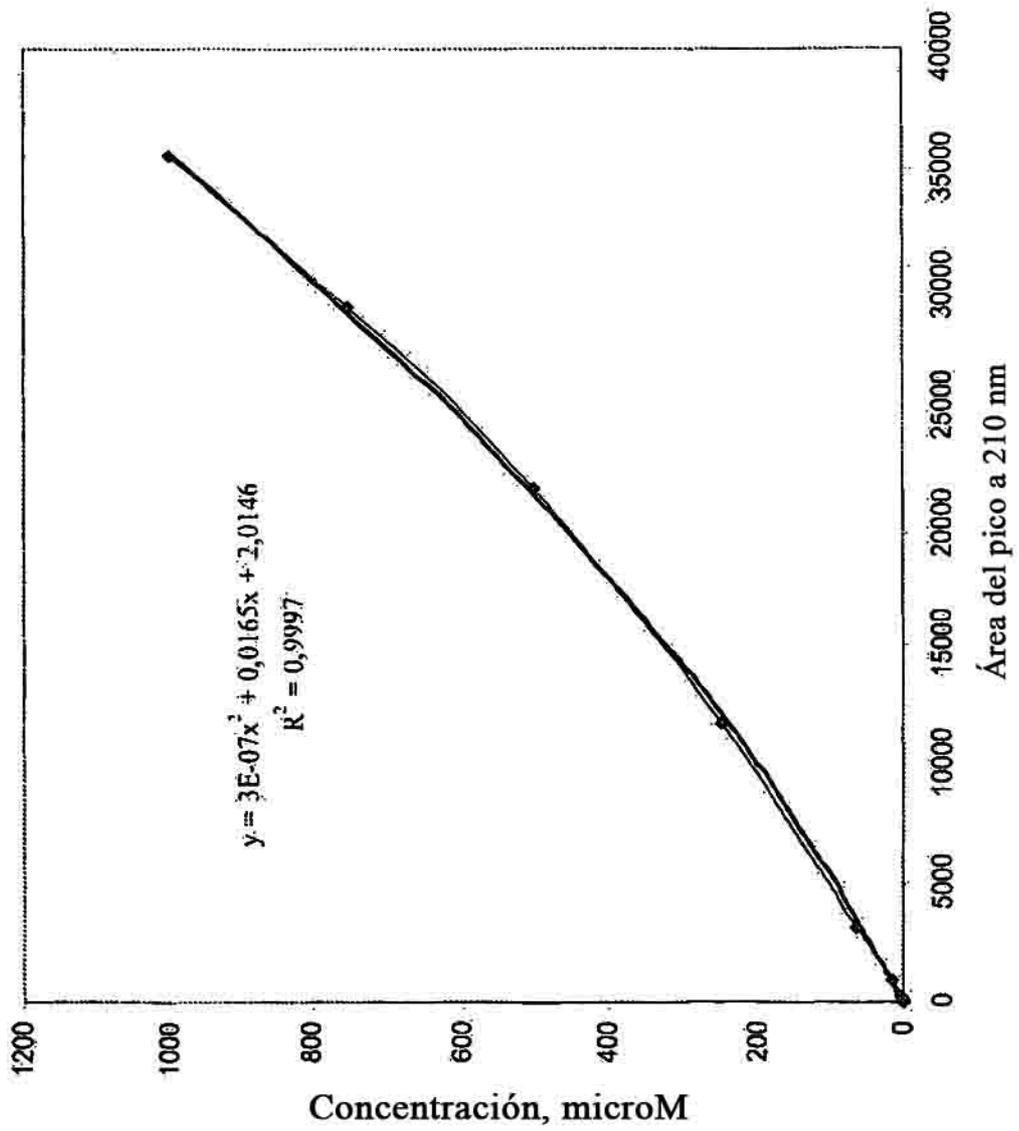


Figura 8

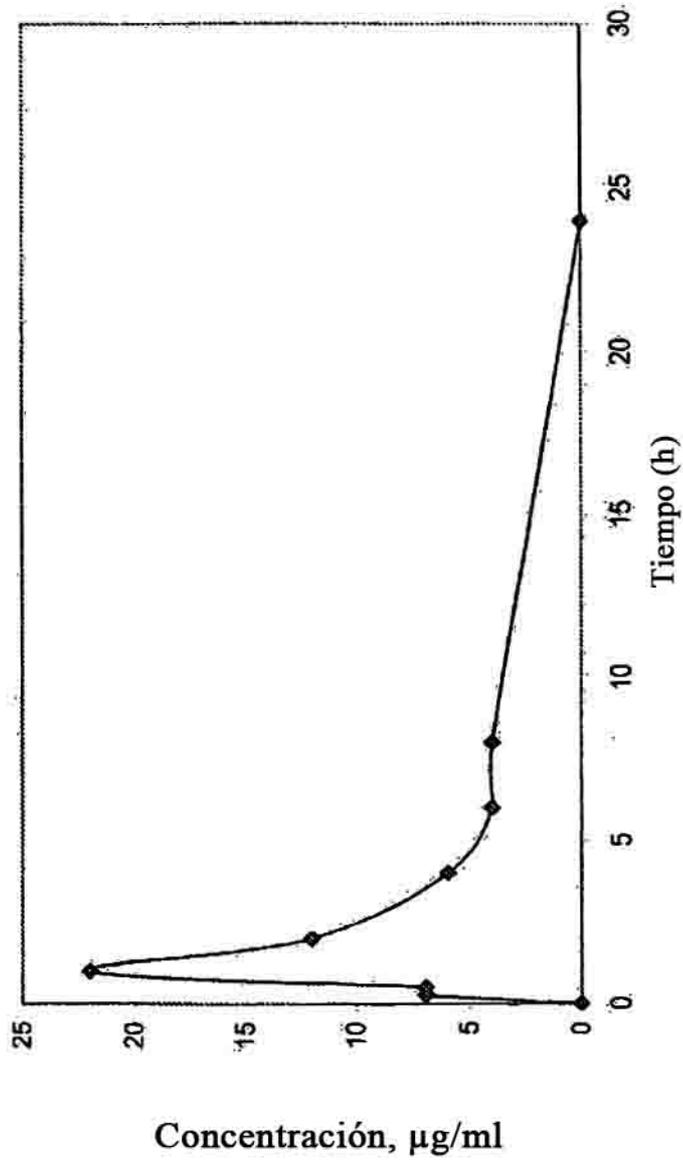


Figura 9