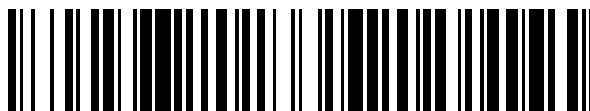


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 672**

51 Int. Cl.:

C07F 9/14 (2006.01)

C07F 9/20 (2006.01)

C07F 9/26 (2006.01)

A61K 31/683 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2011 E 11751437 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2542560**

54 Título: **Inhibidores de fluorofosfato de arilo del cotransporte sodio/fosfato de la membrana apical intestinal**

30 Prioridad:

05.03.2010 US 310902 P

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

29.02.2016

73 Titular/es:

**DUOPHOS (100.0%)
301 Briar Meadow Avenue
Firendswood, TX 77546, US**

72 Inventor/es:

**PEERCE, BRIAN y
SLOWOWITZ, LARRY**

74 Agente/Representante:

RIZZO, Sergio

ES 2 561 672 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

Inhibidores de fluorofosfato de arilo del cotransporte sodio/fosfato de la membrana apical intestinal

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención hace referencia a fluorofosfatos de arilo hidrofílicos que actúan para inhibir el cotransporte de fosfato mediado por Na de la membrana apical intestinal, tratamientos eficaces para reducir el fosfato en sangre, métodos para tratar la hiperfosfatemia y métodos para fabricar inhibidores.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] El hiperparatiroidismo secundario es una complicación grave y común de insuficiencia renal crónica (IRC) que da lugar a osteodistrofia renal, hipertensión, acidosis metabólica y contribuye a enfermedades cardíacas. Se cree que la hiperfosfatemia debida a la excreción renal de fosfato contribuye al hiperparatiroidismo secundario en pacientes con insuficiencia renal crónica. Recientemente, se ha establecido que la disminución de la carga de fosfato puede reducir el hiperparatiroidismo secundario y preservar posiblemente la función renal.

15

[0003] En los mamíferos, la absorción de fosfato intestinal tiene lugar en la membrana del borde en cepillo en el intestino proximal (duodeno y yeyuno). La absorción de fosfato presenta un componente activo y un componente pasivo. La absorción activa de fosfato está unida a la absorción de Na⁺ a favor de su gradiente de potencial electroquímico por el cotransportador Na⁺/fosfato. El componente activo de la absorción de fosfato se regula mediante fósforo dietético y 1,25 dihidroxivitamina D₃ en suero. Se ha señalado que los cambios en el fósforo dietético modifican la expresión de NaPi II b en el intestino. La absorción de fosfato independiente de Na⁺ tiene lugar mediante un mecanismo desconocido a favor de su gradiente de potencial electroquímico. El mecanismo de transporte de fosfato por la membrana basolateral intestinal no se ha definido.

20

25

[0004] Las chalconas son una clase de cetonas aromáticas con importante actividad biológica y su efecto en el transporte de la membrana es bastante conocido. La floricina, un miembro de las chalconas, es un potente inhibidor de los cotransportadores de Na⁺/glucosa de la membrana del borde en cepillo intestinal y renal. La aglucona de floricina, floretina, inhibe una variedad de transportadores de membrana entre los que se incluyen Banda 3 (AE-1, 9, 10) y el portador de glucosa de difusión facilitado (GLUT-4,9,14). Se ha demostrado que un derivado de floretina fosforilada, 2'-PP, es un inhibidor potente del cotransportador Na⁺/fosfato intestinal pero no el cotransportador Na⁺/fosfato del túbulo proximal renal primario. La principal limitación de 2'-PP para el tratamiento de hiperfosfatemia es que se trata de un éster de fosfato y, por lo tanto, se degrada mediante fosfatasas, incluida la fosfatasa de la membrana apical intestinal, la fosfatasa alcalina.

30

35

[0005] WO00/43402 expone 2'-fosfloreteina para utilizarse como inhibidor del cotransporte Na/fosfato de la membrana apical intestinal.

40

[0006] Por lo tanto, se necesitan continuamente agentes nuevos o mejorados que inhiban el cotransporte de fosfato mediado por Na⁺ de la membrana apical intestinal para desarrollar medicamentos nuevos y más eficaces que se dirijan al tratamiento de hiperparatiroidismo secundario provocado por IRC y que da como resultado osteodistrofia renal, hipertensión, acidosis metabólica y contribuye a enfermedades cardíacas. 2'-FPP que es 30 veces más potente que 2'-PP y también más estable a esterases representa una mejora y un avance importantes sobre 2'-PP conocido por ser eficaz en el tratamiento de IRC. Los compuestos, composiciones y métodos descritos en el presente documento se dirigen hacia estas necesidades y otros objetivos.

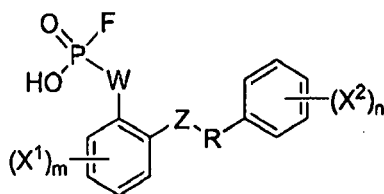
45

SUMARIO DE LA INVENCION

50

[0007] La presente invención proporciona, entre otros, compuestos que se ajustan a la Fórmula I:

55



60

I

65

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde los elementos constituyentes se definen en el presente documento. Los compuestos pueden inhibir el cotransporte de fosfato mediado por sodio de la membrana apical intestinal.

5 **[0008]** La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable. El compuesto puede estar presente en una cantidad que confiera un resultado beneficioso clínicamente sobre un paciente al que se le ha administrado el compuesto. Por lo tanto, las composiciones pueden incluir cantidades eficaces terapéuticamente de los compuestos descritos en el presente documento.

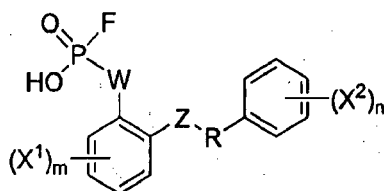
10 **[0009]** La presente invención proporciona además compuestos para utilizarse en métodos de inhibición del cotransporte sodio/fosfato apical intestinal, que comprenden la puesta en contacto del epitelio intestinal con un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

15 **[0010]** La presente invención proporciona además compuestos para utilizarse en métodos para tratar una enfermedad o un trastorno asociado a niveles de fosfato en sangre anormales en un paciente mediante la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 **[0011]** La presente invención proporciona además compuestos para utilizarse en métodos para tratar enfermedades tal como la insuficiencia renal crónica, la osteodistrofia renal, la hipertensión, la acidosis metabólica y enfermedades cardíacas en un paciente mediante la administración al paciente de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de este. La insuficiencia renal puede ser una insuficiencia renal en fase terminal.

25 **[0012]** La presente invención proporciona además un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para utilizarse en la preparación de un medicamento o para la producción de un medicamento para utilizarse en terapia, incluida la terapia para una afección descrita en el presente documento.

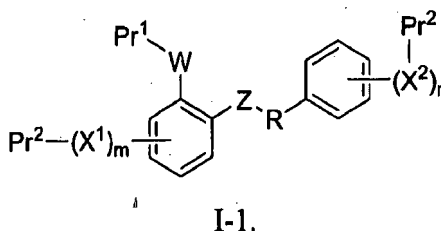
30 **[0013]** La presente invención proporciona procesos para la preparación de un compuesto de Fórmula I:



40 I

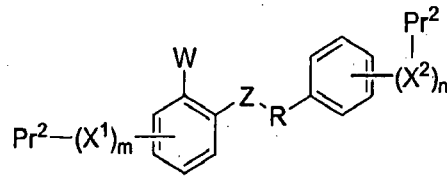
45 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R es alquilo C₂₋₄; W se elige de NR^A, O y S; Z se elige de un enlace simple, -C(O)-, NR^A, O y S; X¹ y X² se eligen de forma independiente de entre -OH, -NHRA y -C(O)OH; RA es H o alquilo C₁₋₃; m es 1, 2, 3 o 4; y n es 1, 2, 3 o 4.

50 **[0014]** La presente invención proporciona procesos para la preparación de un compuesto de Fórmula I-1:



[0015] La presente invención proporciona procesos para la preparación de un compuesto de Fórmula I-2:

5



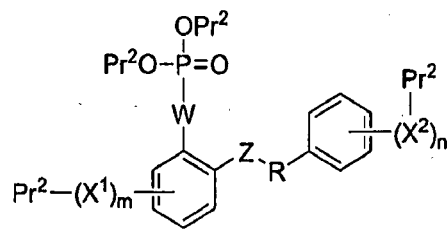
10

I-2.

15

[0016] La presente invención proporciona procesos para la preparación de un compuesto de Fórmula I-3:

20



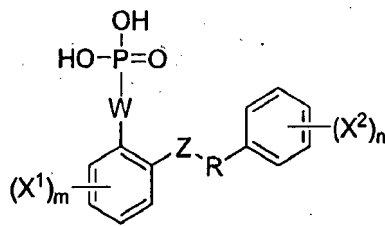
25

I-3.

30

[0017] La presente invención proporciona procesos para la preparación de un compuesto de Fórmula I-4:

35



40

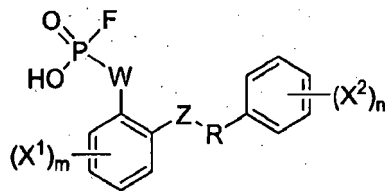
I-4.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

45

[0018] La presente invención proporciona, entre otros, compuestos que inhiben el cotransporte de Na/fosfato apical y son útiles, por ejemplo, para reducir los niveles de fosfato en sangre, y en el tratamiento de hiperfosfatemia. Los compuestos de la invención incluyen aquellos con Fórmula I:

50



55

I

60

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:

R es alquilo C₂₋₄;

W se elige de entre NR^A, O y S;

65

Z se elige de un enlace simple, -C(O)-, NR^A, O y S;

X¹ y X² se eligen de forma independiente de entre -OH, -NHR^A y -C(O)OH;
 R^A es H o alquilo C₁₋₃;
 m es 1, 2, 3 o 4; y
 n es 1, 2, 3 o 4.

- 5
- [0019]** En otras formas de realización, X¹ y X² se eligen de forma independiente de entre OR¹ y OR², donde R¹ y R² son independientemente H o un grupo protector. En otras formas de realización, X¹ y X² se eligen independientemente de entre COOR¹ y COOR², donde R¹ y R² son independientemente H o un grupo protector.
- 10 **[0020]** En algunas formas de realización, R es -CH₂-CH₂- o -CH₂-CH₂-CH₂-.
- [0021]** En algunas formas de realización, W se elige de entre NR^A y O.
- [0022]** En algunas formas de realización, W es O.
- 15 **[0023]** En algunas formas de realización, Z se elige de un enlace simple y -C(O)-.
- [0024]** En algunas formas de realización, Z es -C(O)-.
- 20 **[0025]** En algunas formas de realización, X¹ y X² se eligen independientemente de entre OH y NH₂.
- [0026]** En algunas formas de realización, tanto X¹ como X² son OH.
- [0027]** En algunas formas de realización, n es 1 o 2.
- 25 **[0028]** En algunas formas de realización, m es 1 o 2.
- [0029]** En algunas formas de realización, m es 2 y n es 1.
- 30 **[0030]** En algunas formas de realización, R es -CH₂-CH₂- y Z es -C(O)-.
- [0031]** En algunas formas de realización, W es O y tanto X¹ como X² son OH.
- [0032]** El término "alquilo" se emplea en el presente documento para hacer referencia a un grupo hidrocarburo saturado que presenta cadena lineal o ramificada. Entre los ejemplos de grupos alquilo se incluyen metilo (Me), etilo (Et), propilo (p. ej., n-propilo e isopropilo), butilo (p. ej., n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo), pentilo (p. ej., n-pentilo, isopentilo, sec-pentilo, neopentilo) y similares. Un grupo alquilo puede contener desde 1 a aproximadamente 20, desde 2 a aproximadamente 20, desde 1 a aproximadamente 10, desde 1 a aproximadamente 8, desde 1 a aproximadamente 6, desde 1 a aproximadamente 4, o desde 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono.
- 35
- [0033]** Según su uso en el presente documento, "arilo" hace referencia a hidrocarburos aromáticos monocíclicos o policíclicos (p. ej., con 2, 3 o 4 anillos condensados) tal como, por ejemplo, fenilo, naftilo, antraceno, fenantreno, indanilo, indenilo y similares. En algunas formas de realización, los grupos de arilo presentan de 6 a aproximadamente 20 átomos de carbono.
- 40
- [0034]** Según su uso en el presente documento, "heteroarilo" hace referencia a un heterociclo aromático con al menos un elemento de anillo heteroátomo tal como azufre, oxígeno o nitrógeno. Entre los grupos heteroarilo se incluyen sistemas monocíclicos y policíclicos (p. ej., 2, 3 o 4 anillos condensados). Entre los ejemplos de grupos heteroarilo se incluyen sin carácter limitativo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo, triazinilo, furilo, quinolilo, isoquinolilo, tienilo, imidazolilo, tiazolilo, indolilo, pirrilo, oxazolilo, benzofurilo, benzotienilo, benzotiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, indazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, isotiazolilo, benzotienilo, purinilo, carbazolilo, benzimidazolilo, indolinilo y similares. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo bicíclicos se incluyen sin carácter limitativo, purinilo, indolilo y similares. En algunas formas de realización, cualquier N formador de
- 50
- anillos en una fracción de heteroarilo puede sustituirse por oxo. En algunas formas de realización, el grupo heteroarilo presenta desde 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono y en formas de realización adicionales desde aproximadamente 3 aproximadamente 20 átomos de carbono. En algunas formas de realización, el grupo heteroarilo contiene desde 3 a aproximadamente 14, desde 4 a aproximadamente 14, desde 9 a aproximadamente 10, o de 5 a 6 átomos formadores de anillos. En algunas formas de realización, el grupo heteroarilo presenta desde 1 a aproximadamente 4, desde 1 a aproximadamente 3, o de 1 a 2 heteroátomos.
- 55
- 60
- [0035]** Debe entenderse además que también pueden proporcionarse de forma conjunta en una única forma de realización determinadas características de la invención, que se describen para mayor claridad en el contexto de formas de realización distintas. Por el contrario, varias características de la invención, que, para mayor concisión, se describen en el contexto de una única forma de realización, también pueden proporcionarse de manera
- 65

separada o en cualquier subcombinación adecuada.

[0036] Los compuestos descritos en el presente documento pueden ser asimétricos (p. ej., con uno o más estereocentros). Están previstos todos los estereoisómeros, tal como enantiómeros y diastereómeros, a menos que se indique lo contrario. Los compuestos de la presente invención que contienen átomos de carbono sustituidos de forma asimétrica pueden aislarse en formas racémicas u ópticamente activas. Los métodos sobre cómo preparar formas ópticamente activas a partir de materiales de partida ópticamente inactivos son conocidos en la técnica, tal como mediante la resolución de mezclas racémicas o mediante síntesis estereoselectivas. También pueden estar presentes en los compuestos descritos en el presente documento muchos isómeros geométricos de olefinas, enlaces dobles C=N, y similares, y todos esos isómeros estables se contemplan en la presente invención. Se describen los isómeros geométricos cis y trans de los compuestos de la presente invención y pueden aislarse como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas.

[0037] La resolución de mezclas racémicas de compuestos puede llevarse a cabo mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica. Un método de ejemplo incluye la recristalización fraccional con un ácido de resolución quiral que es un ácido orgánico formador de sales, ópticamente activo. Los agentes de resolución adecuados para métodos de recristalización fraccional son, por ejemplo, ácidos ópticamente activos, tal como las formas D y L de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico, ácido láctico o los diferentes ácidos canforsulfónicos ópticamente activos tal como ácido β -canforsulfónico. Otros agentes de resolución para métodos de cristalización fraccional incluyen formas puras estereoisoméricamente de α -metilbencilamina (p. ej., formas S y R, o formas diastereoméricamente puras), 2-fenilglicinol, norefedrina, efedrina, N-metilefedrina, ciclohexiletilamina, 1,2-diaminociclohexano y similares.

[0038] La resolución de las mezclas racémicas también puede llevarse a cabo mediante la elución sobre una columna cargada con un agente de resolución ópticamente activo (p. ej., dinitrobenzoilfenilglicina). Un experto en la técnica puede determinar la composición de solvente de elución adecuada.

[0039] Los compuestos de la invención también pueden incluir formas tautoméricas. Las formas tautoméricas resultan del intercambio de un enlace simple con un enlace doble adyacente junto con la migración concomitante de un protón. Entre las formas tautoméricas se incluyen tautómeros prototrópicos que son estados de protonación isomérica con la misma fórmula empírica y carga total. Entre los ejemplos de tautómeros prototrópicos se incluyen pares cetona-enol, pares amida-ácido imídico, pares lactama-lactima, pares amida-ácido imídico, pares enamina-imina y formas anulares donde un protón puede ocupar dos o más posiciones de un sistema heterocíclico, por ejemplo, 1H- y 3H-imidazol, 1H-, 2H y 4H-1,2,4-triazol, 1H- y 2H-isoindol y 1H y 2H pirazol. Las formas tautoméricas pueden estar en equilibrio o bloqueadas estéricamente en una forma mediante sustitución adecuada.

[0040] Los compuestos de la invención también pueden incluir todos los isótopos de átomos que se dan en los compuestos finales o intermediarios. Los isótopos incluyen aquellos átomos con el mismo número atómico pero diferente número másico. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio.

[0041] El término "compuesto" según el presente documento pretende incluir todos los estereoisómeros, isómeros geométricos, tautómeros e isótopos de las estructuras representadas, incluidas estructuras que se ajustan a una fórmula genérica presentada en el presente documento.

[0042] Todos los compuestos, y sales farmacéuticamente aceptables de estos, pueden hallarse junto con otras sustancias tal como agua y solventes (p. ej., hidratos y solvatos) o pueden aislarse.

[0043] En algunas formas de realización, los compuestos de la invención, o sales de este, se aíslan sustancialmente. Mediante "sustancialmente aislado" se hace referencia a que el compuesto está separado al menos parcialmente o sustancialmente del medio en el que se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en los compuestos de la invención. La separación sustancial puede incluir composiciones con al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 97 % o al menos aproximadamente 99 % en peso de los compuestos de la invención, o sal de estos. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son una rutina en la técnica.

[0044] La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para hacer referencia a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance de un criterio médico sensato, adecuados para su uso en contacto con tejidos de seres humanos y animales sin una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación de beneficio/riesgo razonable.

[0045] Las expresiones "temperatura ambiente" y "temperatura ambiental", según su uso en el presente

documento, se entienden en la técnica y hacen referencia generalmente a una temperatura, p. ej., una temperatura de reacción, que es aproximadamente la temperatura de la habitación en la que la reacción se lleva a cabo, por ejemplo, una temperatura desde aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.

5 **[0046]** La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en el presente documento. Según su uso en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" hace referencia a derivados de los compuestos expuestos donde el compuesto precursor se modifica mediante la conversión de un ácido existente o una fracción base a su forma de sal. Entre los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se incluyen, sin carácter limitativo, sales de ácido orgánico o minerales de
10 residuos básicos tal como aminas; sales orgánicas o alcalinas de residuos ácidos tal como ácidos carboxílicos; y similares. Entre las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se incluyen sales no tóxicas convencionales del compuesto precursor formadas, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto precursor que contiene una fracción ácida o básica mediante métodos químicos convencionales.
15 Generalmente, tales sales pueden prepararse mediante la reacción de las formas base o libres de ácidos de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido o base adecuados en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de las dos; generalmente, se prefieren los medios no acuosos como éter, acetato de etilo, alcoholes (p. ej., metanol, etanol, isopropanol o butanol) o acetonitrilo (ACN). Las listas de sales adecuadas se encuentran en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17 ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 y *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977), cada uno de los cuales se incorpora al presente documento como referencia en su totalidad.

[0047] *Síntesis:* Los procesos y pasos intermedios de la presente invención son útiles para la preparación de inhibidores de cotransporte sodio/fosfato apical intestinal, eficaces para reducir los niveles de fosfato en sangre y la hiperfosfatemia. Los compuestos de la invención, incluidas las sales de estos, pueden prepararse utilizando técnicas de síntesis orgánica conocidas y pueden sintetizarse de acuerdo con cualquiera de las diferentes rutas sintéticas posibles.
25

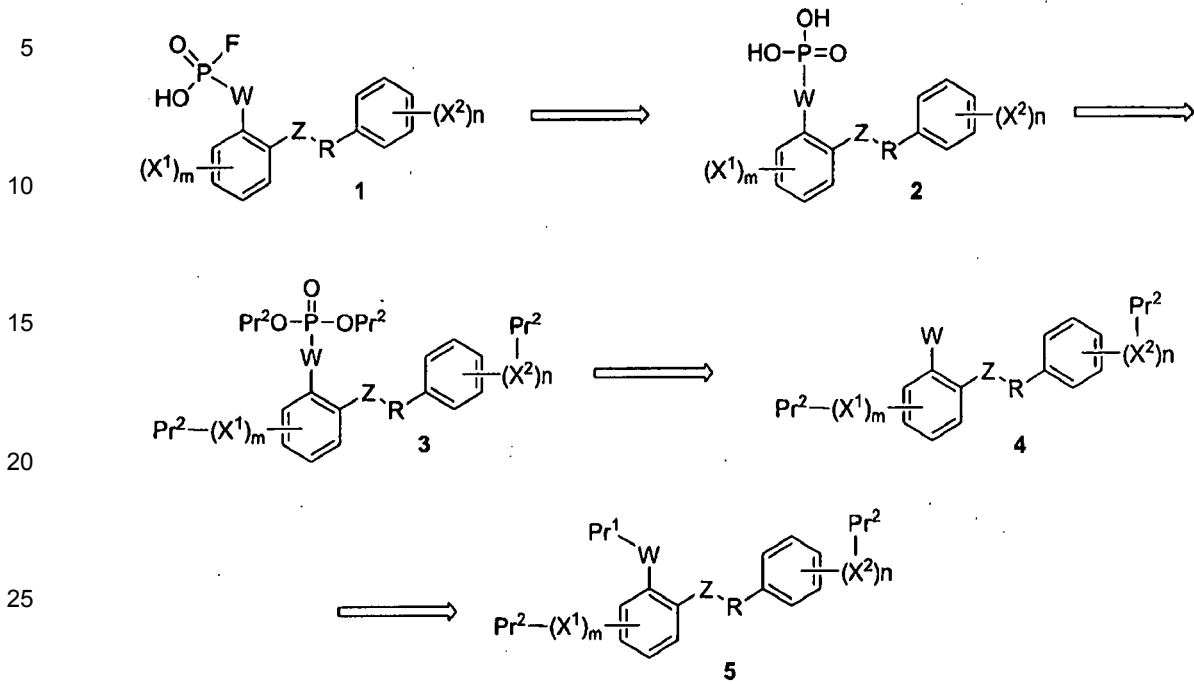
[0048] Las reacciones para preparar los compuestos de la invención pueden llevarse a cabo en solventes adecuados que pueden ser elegidos fácilmente por un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los solventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactivos), los intermediarios, o productos con la temperatura a la que las reacciones se llevan a cabo, p. ej., temperaturas que pueden variar desde la temperatura de congelación del solvente a la temperatura de ebullición del solvente. Una reacción determinada puede llevarse a cabo en un solvente o en una mezcla de más de un solvente.
30 Dependiendo de la etapa de reacción específica, el experto puede elegir los solventes adecuados para una etapa de reacción específica.
35

[0049] La preparación de compuestos de la invención puede implicar la protección y desprotección de diferentes grupos químicos. El experto en la técnica puede determinar fácilmente la necesidad de protección y desprotección y la selección de grupos protectores adecuados. La química de los grupos protectores puede hallarse, por ejemplo, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999), que se incorpora al presente documento como referencia en su totalidad.
40

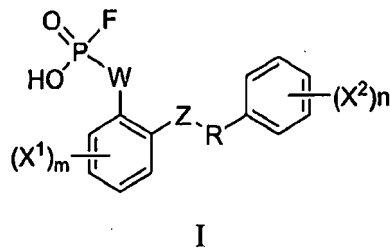
[0050] Las reacciones pueden controlarse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación de producto puede controlarse mediante medios espectroscópicos, tal como espectroscopia de resonancia magnética nuclear (p. ej., ^1H o ^{13}C), espectroscopia infrarroja, espectrofotometría (p. ej., UV-visible), espectrofotometría de masas o mediante métodos cromatográficos tal como cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) o cromatografía en capa fina (TLC).
45

[0051] Los métodos sintéticos de ejemplo para preparar los compuestos de la invención se presentan en los esquemas a continuación. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden prepararse mediante el esquema retrosintético general mostrado en el Esquema 1. Los compuestos de fórmula 1 pueden prepararse sometiendo a un compuesto de fórmula 2 con un agente fluorante. Los compuestos de fórmula 2 pueden sintetizarse extrayendo Pr^2 de un compuesto de fórmula 3. Los compuestos de fórmula 3 pueden prepararse fácilmente a partir de la fosforilación de compuestos de fórmula 4. Finalmente, los compuestos de fórmula 5 pueden sintetizarse mediante la desprotección selectiva que revela el punto de unión (W) para la fosforilación.
50
55
60
65

Esquema 1



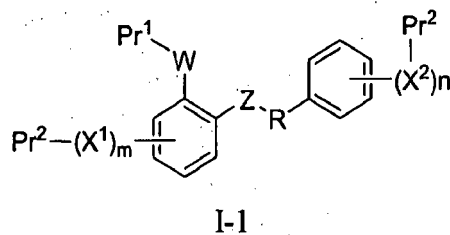
Por consiguiente, la presente invención proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de Fórmula I:



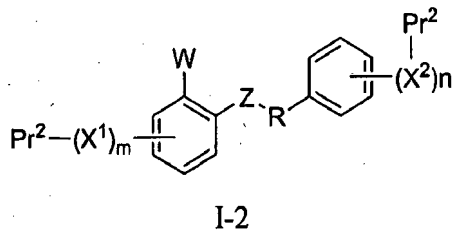
45 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R es alquilo C₂₋₄;
 W se elige de entre NR^A, O y S; Z se elige de entre un enlace simple, -C(O)-, NR^A, O y S; X¹ y X² se eligen cada uno de forma independiente de entre -OH, -NHR^A y -C(O)OH; R^A es H o alquilo C₁₋₃; m es 1, 2, 3 o 4; y n es 1, 2, 3 o 4;

50 proceso que comprende:

- a) la extracción de Pr¹ en presencia de Pr² de un compuesto de Fórmula I-1:

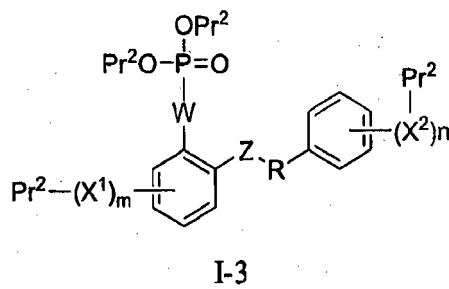


donde Pr¹ y Pr² son grupos protectores; para preparar un compuesto de Fórmula I-2:



5

b) la reacción de un compuesto de Fórmula I-2 con un agente fosforilante para preparar un compuesto de Fórmula I-3:



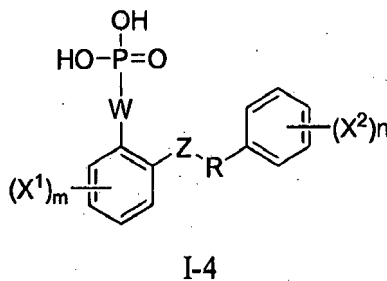
10

15

20

c) la extracción de Pr² de un compuesto de Fórmula I-3 con un agente reductor para preparar un compuesto de Fórmula I-4:

25



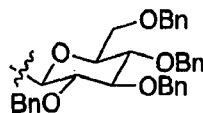
30

35

d) la reacción de un compuesto de Fórmula I-4 con un agente fluorante para preparar dicho compuesto de Fórmula I.

40

[0052] En algunas formas de realización, Pr¹ es:



45

[0053] En algunas formas de realización, Pr² es bencilo.

[0054] En algunas formas de realización, el agente fosforilante es un éster de fosfito. En una forma de realización adicional, el éster de fosfito es fosfito dibencilico. En otra forma de realización, el agente fosforilante es un ácido fosfónico. En una forma de realización adicional, el ácido fosfónico es ácido fluorofosfónico.

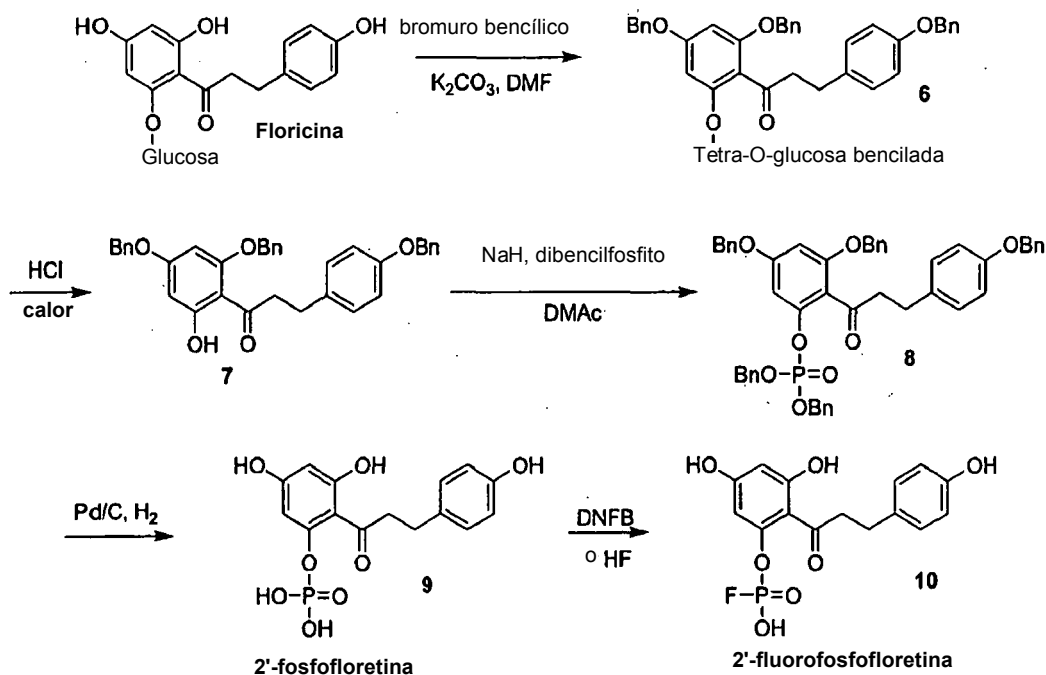
50

[0055] En algunas formas de realización, el agente reductor está compuesto de gas hidrógeno y un metal de transición.

[0056] En algunas formas de realización, el agente fluorante es dinitrofluorobenceno. En una forma de realización adicional, el agente fluorante es ácido fluorhídrico.

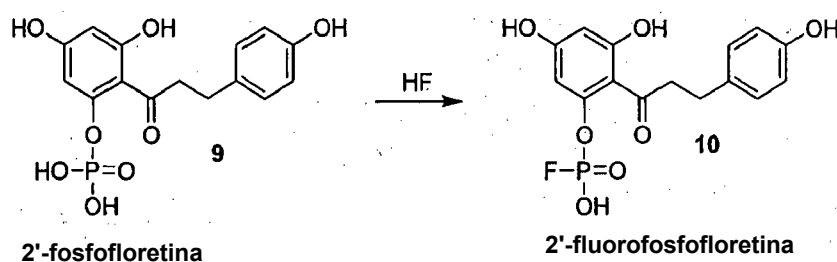
[0057] Tal y como se muestra en el esquema 2, el conocido compuesto floricina se somete a bencilación para proporcionar el compuesto completamente protegido por bencilo. El tratamiento del compuesto 6 bajo condiciones ácidas proporcionó fenol 7 que se convirtió en el compuesto de fosfato protegido por bencilo 8. La hidrogenación catalítica de 8 proporcionó 2'-fosfofloreína (9) que se sometió a fluoración con un agente fluorante tal como dinitrofluorobenceno (DNFB) o ácido fluorhídrico (HF) para proporcionar 2'-fluorofosfofloreína (10).

Esquema 2



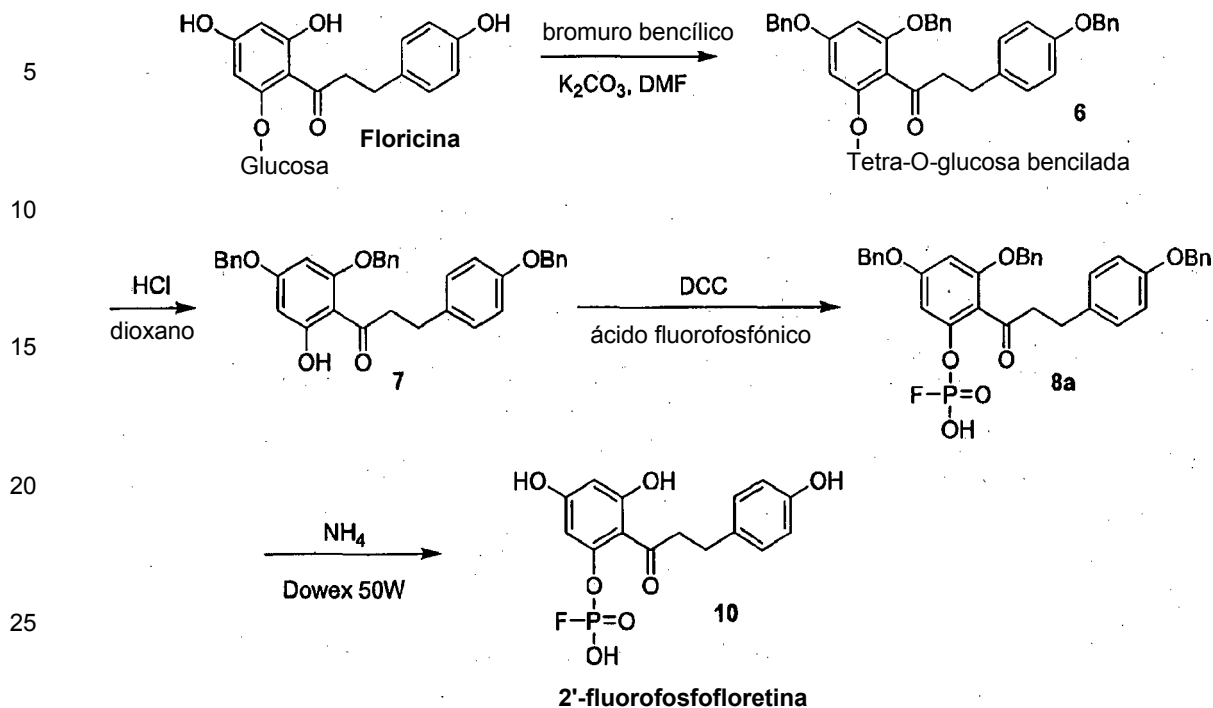
[0058] De forma alternativa, 2'-fosfofloreína (9) puede someterse a fluoración con ácido fluorhídrico anhidro para dar lugar a 2'-fluorofosfofloreína (10) (Esquema 3).

Esquema 3



[0059] En el Esquema 4 se muestra una ruta alternativa para preparar 2'-fluorofosfofloreína que comienza con el conocido compuesto floricina. La bencilación de floricina proporcionó 6 que se desprotegió de forma selectiva para dar lugar a fenol 7. El tratamiento con diclorocromato (DCC) y ácido fluorofosfónico permitió el ácido fluorofosfónico 8a. La extracción de los grupos de bencilo de 8a se consiguió con amonio y Dowex 50W para proporcionar 2'-fluorofosfofloreína.

Esquema 4



Métodos de uso: Los compuestos de la invención pueden inhibir el cotransporte de sodio/fosfato apical intestinal. Los compuestos de la invención pueden también ser un tratamiento eficaz para reducir los niveles de fosfato en sangre y la hiperfosfatemia.

[0060] La presente invención proporciona además compuestos para utilizarse en métodos para tratar una enfermedad provocada por niveles elevados de fosfato en sangre o asociada con esto en un sujeto mamífero, donde se incluye la identificación de un sujeto en el que se recomienda la reducción de los niveles de fosfato en sangre y la administración al sujeto que necesita tal tratamiento de una cantidad o dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo. En algunas formas de realización, el sujeto es un mamífero. En algunas formas de realización, el sujeto es un humano. En algunas formas de realización, el compuesto se administra de forma oral. En algunas formas de realización, la enfermedad es una insuficiencia renal crónica. En algunas formas de realización, la insuficiencia renal crónica se asocia a la hiperfosfatemia, al hiperparatiroidismo secundario, a la osteodistrofia renal, a la hipertensión, a la acidosis metabólica o a enfermedades cardíacas, o va acompañada de estos. La insuficiencia renal crónica puede ser insuficiencia renal en fase terminal y los pacientes que padecen insuficiencia renal en fase terminal responden a un tratamiento como el que se describe en el presente documento.

[0061] El término "puesta en contacto" hace referencia en el presente documento a la unión de las fracciones indicadas en un sistema *in vitro* o un sistema *in vivo*. Por ejemplo, la "puesta en contacto" de un compuesto de la invención con el cotransporte sodio/fosfato apical intestinal incluye la administración de un compuesto de la presente invención a un individuo o paciente, tal como un humano, así como, por ejemplo, la introducción de un compuesto de la invención en una muestra que contiene una preparación celular o purificada del cotransporte sodio/fosfato apical intestinal.

[0062] El término "individuo" o "paciente" utilizado indistintamente, hace referencia en el presente documento a cualquier animal, entre los que se incluyen mamíferos, preferiblemente ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado, ovejas, caballos o primates, y más preferiblemente humanos.

[0063] La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" hace referencia en el presente documento a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que obtiene la respuesta biológica o terapéutica que busca un investigador, veterinario, médico u otro clínico en un tejido, sistema, animal, individuo o humano.

[0064] El término "tratar" o "tratamiento" hace referencia en el presente documento a uno o más de entre (1) la prevención de la enfermedad; por ejemplo, la prevención de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, afección o trastorno pero aún no ha sufrido o mostrado

la patología o sintomatología de la enfermedad; (2) la inhibición de la enfermedad; por ejemplo, la inhibición de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que sufre o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno; y (3) la mejora de la enfermedad; por ejemplo, la mejora de una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que sufre o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología) tal como disminuyendo la gravedad de la enfermedad.

[0065] *Formulaciones y formas farmacéuticas:* Cuando se emplean como medicamentos, los compuestos de la invención pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas. Estas composiciones pueden prepararse de forma conocida en la técnica farmacéutica y pueden administrarse mediante una variedad de rutas, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración puede ser oral.

[0066] La invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como ingrediente activo, el compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de este, junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables (excipientes). En algunas formas de realización, la composición es adecuada para la administración oral. En el proceso de fabricación de las composiciones de la invención, el ingrediente activo se mezcla normalmente con un excipiente, se diluye con un excipiente o se incluye en dicho portador en forma de, por ejemplo, una cápsula, un sobre, un envoltorio u otro recipiente. Cuando el excipiente funciona como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por lo tanto, las composiciones pueden presentarse en forma de comprimidos, pastillas, polvos, grageas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, cápsulas de gelatina duras y blandas y polvos envasados esterilizados.

[0067] En la preparación de una formulación, se puede moler el compuesto activo para proporcionar el tamaño de partícula adecuado antes de combinarlo con otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, puede molerse hasta un tamaño de partícula inferior a 200 de malla. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble al agua, el tamaño de partícula puede ajustarse mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, p. ej., aproximadamente 40 de malla.

[0068] Los compuestos de la invención pueden molerse mediante procedimientos de molienda conocidos tal como molienda húmeda para obtener un tamaño de partícula adecuado para la formación de los comprimidos y para otros tipos de formulación. Las preparaciones divididas finamente (nanoparticuladas) de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante procesos conocidos en la técnica, p. ej., véase Solicitud Internacional N.º WO 2002/000196.

[0069] Entre algunos ejemplos de excipientes adecuados se incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábica, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, sirope y metilcelulosa. Entre las formulaciones se pueden incluir además: agentes lubricantes tal como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes de humectación, agentes de emulsión y suspensión; agentes conservantes tal como metil- y propilhidroxibenzoatos, agentes edulcorantes y agentes aromatizantes. Las composiciones de la invención pueden formularse para que proporcionen una liberación rápida, mantenida o retrasada del ingrediente activo tras la administración al paciente mediante el uso de procedimientos conocidos en la técnica.

[0070] Las composiciones pueden formularse en formas farmacéuticas de dosis unitaria, donde cada dosis contiene desde aproximadamente 5 a aproximadamente 1000 mg (1 g), más comúnmente desde aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mg, del ingrediente activo. El término "formas farmacéuticas de dosis unitarias" hace referencia a unidades separadas físicamente adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, junto con un excipiente farmacéutico adecuado.

[0071] En algunas formas de realización, los compuestos o composiciones de la invención contienen desde aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg del ingrediente activo. Un experto en la técnica entenderá que esto incluye compuestos o composiciones con un intervalo desde aproximadamente 5 a aproximadamente 10, desde aproximadamente 10 a aproximadamente 15, desde aproximadamente 15 a aproximadamente 20, desde aproximadamente 20 a aproximadamente 25, desde aproximadamente 25 a aproximadamente 30, desde aproximadamente 30 a aproximadamente 35, desde aproximadamente 35 a aproximadamente 40, desde aproximadamente 40 a aproximadamente 45 o desde aproximadamente 45 a aproximadamente 50 mg del ingrediente activo.

[0072] En algunas formas de realización, los compuestos o composiciones de la invención contienen desde aproximadamente 50 a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo. Un experto en la técnica entenderá que esto incluye compuestos o composiciones con un intervalo desde aproximadamente 50 a aproximadamente 100, desde aproximadamente 100 a aproximadamente 150, desde aproximadamente 150 a aproximadamente 200,

desde aproximadamente 200 a aproximadamente 250, desde aproximadamente 250 a aproximadamente 300, desde aproximadamente 300 a aproximadamente 350, desde aproximadamente 350 a aproximadamente 400, desde aproximadamente 400 a aproximadamente 450 o desde aproximadamente 450 a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo.

5

[0073] En algunas formas de realización, los compuestos o composiciones de la invención contienen desde aproximadamente 500 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo. Un experto en la técnica entenderá que esto incluye compuestos o composiciones con un intervalo desde aproximadamente 500 a aproximadamente 550, desde aproximadamente 550 a aproximadamente 600, desde aproximadamente 600 a aproximadamente 650, desde aproximadamente 650 a aproximadamente 700, desde aproximadamente 700 a aproximadamente 750, desde aproximadamente 750 a aproximadamente 800, desde aproximadamente 800 a aproximadamente 850, desde aproximadamente 850 a aproximadamente 900, desde aproximadamente 900 a aproximadamente 950 o desde aproximadamente 950 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo.

10

[0074] El compuesto activo puede ser eficaz sobre un amplio intervalo de dosis y se administra generalmente con una cantidad farmacéuticamente eficaz. Sin embargo, se entenderá que la cantidad del compuesto que se administra realmente será determinada por un médico, según las circunstancias relevantes, entre las que se incluyen la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

15

20

[0075] Para la preparación de composiciones sólidas tal como comprimidos, el principal ingrediente activo se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida con una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, el ingrediente activo se dispersa normalmente de forma uniforme por toda la composición de manera que la composición puede subdividirse fácilmente en formas farmacéuticas de dosis unitaria igualmente eficaces tal como comprimidos, pastillas y cápsulas. A continuación, se subdivide esta preformulación sólida en formas farmacéuticas del tipo descrito anteriormente con, por ejemplo, desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 mg del ingrediente activo de la presente invención.

25

[0076] Los comprimidos o pastillas de la presente invención pueden revestirse o componerse de otra forma para proporcionar una forma farmacéutica que permite la ventaja de la acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o pastilla puede comprender un componente de dosis interna o dosis externa, siendo este último en forma de envoltorio sobre el anterior. Los dos componentes pueden separarse mediante una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permitir que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase la liberación. Se puede utilizar una variedad de materiales para tales capas o revestimientos entéricos, tal como materiales que incluyen un número de ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con tales materiales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

30

35

[0077] Entre las formas líquidas en las que los compuestos y composiciones de la presente invención pueden incorporarse para administración oral o mediante inyección se incluyen soluciones acuosas, jarabes aromatizados adecuadamente, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tal como aceite de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

40

[0078] En algunas formas de realización, las composiciones se administran por vía oral para un efecto local. Las composiciones en polvo, suspensión o solución pueden administrarse de forma oral a partir de dispositivos que administran la formulación de forma adecuada.

45

[0079] La cantidad de compuesto o composición administrada a un paciente variará según lo que se administre, el fin de la administración, tal como profilaxis o terapia, el estado del paciente, la forma de administración y similares. En usos terapéuticos, las composiciones pueden administrarse a un paciente que ya padece una enfermedad con una cantidad suficiente para curar o al menos detener los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. La dosificación eficaz dependerá de la enfermedad que se trate así como de la opinión del clínico que asista según factores tal como la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y el estado general del paciente y similares.

50

55

[0080] Las composiciones administradas a un paciente pueden presentarse en forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales o se les puede realizar una filtración estéril. Las soluciones acuosas pueden empaquetarse para su uso como tales o liofilizadas, combinando la preparación liofilizada con un portador acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones de compuestos estará normalmente entre 3 y 11, más preferiblemente entre 5 y 9 y más preferiblemente entre 7 y 8. Se entenderá que el uso de alguno de los excipientes, portadores o estabilizadores anteriores tendrá como resultado la formación de sales farmacéuticas.

60

65

[0081] La dosificación terapéutica de un compuesto de la presente invención puede variar según, por ejemplo, el uso específico para el que se realiza el tratamiento, la forma de administración del compuesto, la salud y estado del paciente y la opinión del médico que lo prescribe. La proporción o concentración de un compuesto de la invención en una composición farmacéutica puede variar según un número de factores entre los que se incluye la dosificación, las características químicas (p. ej., hidrofobicidad) y la vía de administración. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden disponerse en una solución amortiguadora fisiológica acuosa con aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 % p/v del compuesto para la administración parenteral. Algunos intervalos de dosificación típica van desde aproximadamente 1 µg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal al día.

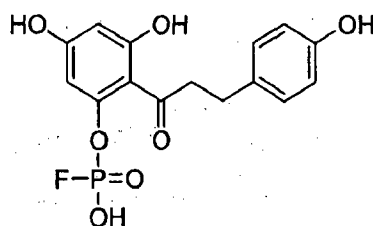
[0082] En estudios con 2'-fosfofloreína, les administramos a los animales 0,1 g/día y no se observaron efectos secundarios durante un ensayo de 3 meses en ratas normales o nefrectomizadas 5/6. En otros estudios, 2'-fosfofluoruro floreína, les administramos a los animales 0,02 g/día. No se observaron efectos secundarios durante un ensayo de 2 meses en ratas normales; durante un ensayo de 1 mes en ratas nefrectomizadas 5/6 y durante un ensayo de 1 mes en ratas Dahl sensibles a la sal. Se compararon los compuestos de forma favorable con sales de calcio (tal como TUMS®), LaCO₃ (FOSRENOL®) y una resina aglutinante de fósforo (RENAGEL®).

[0083] En algunas formas de realización, el intervalo de dosificación va desde aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día. La dosis puede depender de variables tales como el tipo y alcance de la progresión de la enfermedad o trastorno, el estado de salud general de paciente en concreto, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del excipiente y su vía de administración. Las dosificaciones eficaces pueden extrapolarse a partir de curvas de respuesta a la dosificación derivadas de sistemas de ensayo modelo animal o *in vitro*.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Síntesis de 2-fluorofosfofloreína (2'-FPP) con Dinitrofluorobenceno (DNFB)

[0084]



[0085] Se sintetizó 2-fluorofosfofloreína (2'-FPP) según el método de Peerce *et al. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 283: G848-G855, 2002.

Etapa 1. 4,6,4-tri-O-bencilfloreína

[0086] Se disolvió floricina (2 g) en dimetilformamida redestilada (35 ml) y carbonato de potasio (3,1 g). Se añadió bromuro bencilico (2,7 ml) a esta solución y se dejó que la mezcla de reacción se mezclara durante 3 días a 23 °C. Se destiló la solución al vacío y el residuo se enfrió a temperatura ambiente. Se extrajo el residuo con agua/acetato de etilo (2:1) tres veces. Las capas orgánicas se combinaron y concentraron en vacío. Se diluyó el residuo en 1,4 dioxano (200 ml) y se añadió HCl gota a gota a la concentración final de 0,4 N. La mezcla se sometió a reflujo durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con 1 M bicarbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo. La extracción con acetato de etilo se repitió tres veces. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, seguido de dos lavados con NaCl (0,9 %). Se añadió Na₂SO₄ anhidro a la capa orgánica y se mezcló. La filtración al vacío extrajo el Na₂SO₄. Se añadió Na₂SO₄ nuevo a la solución que, a continuación, se mezcló durante 12 horas a 23 °C. La filtración al vacío extrajo el Na₂SO₄ y el filtrado se concentró para dar lugar a 4,6,4-tri-O-bencilfloreína (2,1 g, 92 % rendimiento): RMN-¹H (CDCl₃) δ13,6 (s, 1H); 7,46-7,29 (m, 15H); 6,86 (d, J=8,8 Hz, 2H); 6,8 (d, J=8,8 Hz, 2H); 6,35 (d, J=2,3 Hz, 1H); 6,21 (d, J=2,3 Hz, 1H); 5,17 (s, 2H); 5,14 (s, 2H); 5,07 (s, 2H); 3,2 (t, J=7,1 Hz, 2H) ppm.

Etapa 2. Dibencilfosfotribencil floreína

[0087] Se disolvió 4,6,4-tri-O-bencilfloreína (2,1 g) en *N,N*-dimetilacetamida (DMAc) y se colocó sobre hielo. Se añadió hidruro de sodio (60 %) y se agitó la mezcla a 23 °C durante 1 hora. Se enfrió la solución y el hidruro de sodio se inactivó con tetracloruro de carbono. Se añadió fosfito dibencilico (1,31 ml) en *N,N*-dimetilacetamida y

se mezcló la solución durante 30 min. Se acidificó la solución y se dividió entre agua y hexano/acetato de etilo (1:1). Se extrajo la capa de agua tres veces con hexano/acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 0,9 % NaCl y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Se extrajo el sulfato de sodio mediante filtración. El filtrado se concentró en vacío y se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice con acetato de etilo/diclorometano/hexanos (5:25:70) como eluyente. Se recuperó dibencilfosfotribencil floretina (750 mg, 43 % rendimiento): RMN-¹H (CDCl₃) δ 7,42-7,29 (m, 25 H); 6,93 (d, J=8,8 Hz, 2H); 6,78 (d, J=8,8 Hz, 2H); 6,63 [doblete doble (dd), J=1,2,2 Hz, 1H]; 6,4 (dd, J=0,6, 2,1 Hz, 1H); 5,06 (s, 5,04, 2H); 5,04 (s, 2H); 4,97 (d, J=4,8 Hz, 4H); 4,87 (s, 2H); 3,03 (t, J=8,4 Hz, 2H); 2,83 (t, J=8,2 Hz, 2H) ppm.

10 *Etapa 3. 2'-fluorofosfotribencil (2'-FPP)*

[0088] Se disolvió dibencilfosfotribencil, floretina en acetato de etilo. Se añadió paladio sobre carbono (200 mg de 10 %) y se mezcló la solución bajo gas H₂ durante 2 horas. Se filtró la solución con Celite (Sigma-Aldrich). La torta de Celite se lavó dos veces con acetato de etilo y los lavados combinados se concentraron bajo presión reducida para dar lugar a 2'-PP (400 mg, 29 % rendimiento) tras el secado: punto de fusión (mp), 171-172 °C, RMN-¹H (d₆-DMSO) δ 13,0 (s, 1H); 10,7 (bs, 1H); 9,2 (bs, 1H); 7,03 (d, J=8,6 Hz, 2H); 6,64 (d, J=8,4 Hz, 2H); 6,63 (dd, J=1,2, 2,1 Hz, 1H); 2,77 (d, J=7,6 Hz, 2H) ppm.

[0089] RMN-³¹P en D₂O produjo un pico único con 4 ppm compuesto de 98 % de la señal de fósforo. RMN-³¹P en DMSO produjo un pico único con 4,3 pulsaciones/minuto. Los experimentos RMN-¹³C desacoplado de H proporcionaron 12 especies de carbono únicas que podrían asignarse al inhibidor.

[0090] La espectrometría de masas por electrospray proporcionó una masa/carga iónica de 355 (masa + protón) consistente con la masa molecular calculada de 2'PP de 354.

[0091] Se pasó 2'-PP por una columna de intercambio iónico equilibrada con 100 mM bicarbonato de tetrametilamonio, concentrada al vacío y se añadió 10 mM DNFB. Se mezcló la reacción a 23 °C durante 4 horas y los reactivos se lavaron a través de una columna de gel de sílice eluida con cloroformo:metanol (70 %: 30 %). Se secaron las fracciones y se precipitaron con 0,1 M NaOH. Se recogió el precipitado, se cambió la solución amortiguadora por una columna Sephadex G-10 y se concentró al vacío.

Ejemplo 2. Síntesis de 2-fluorofosfotribencil (2'-FPP) con ácido fluorhídrico

[0092] Se llevó a cabo una síntesis alternativa de 2'FPP sustituyendo ácido fluorhídrico por DNFB.

[0093] Se empezó con 20 mg de 2'-PP disueltos en 1 ml. Se añadió DMF, 0,1 ml de 0,1 M HF y se dejó que la solución reposara a 23 °C durante 2 horas. Se enfrió la mezcla de reacción y se neutralizó hasta un pH 8 con 12 N NaOH. Los productos precipitados se pasaron por una columna Sephadex G-10 equilibrada con 100 mM TMAHCO₃ y se liofilizó.

[0094] Se examinó la pureza de 2'-FPP mediante cromatografía en capa fina sobre gel de sílice con cloroformo:metanol (7:3) o cloroformo:3-propanol (8:2). Se llevó a cabo un análisis de 2'-FPP después de la TLC mediante la comparación con floretina y 2'-PP. Las placas de TLC se examinaron para analizar el fosfato por la reacción Fiske SubbaRow y el fluoruro con HCl circonio-laca alizarina. Una reacción positiva con laca alizarina requería el calentamiento de la tira TLC durante 1 hora a 60 °C. RMN-¹H (d₆-DMSO) δ 10,7 (s, 1H); 9,3, (s, 1H); 7,17 (t, 2H J=8,6 Hz), 6,8 (t, 2H); 6,6 (d, 2H, J=8,4 Hz), 3,2 (t, 2H, J=2 Hz); 2,9 (t, 2H, J=2,1 Hz); 1,9 (singlete débil) ppm.

Ejemplo A: Efectos de 2'-FPP sobre la absorción de fosfato [³²P] dependiente de Na

[0095] Se investigó el efecto de 2'-FPP sobre la absorción de fosfato [³²P] dependiente de Na en las vesículas de membrana del borde en cepillo intestinal (apical) utilizando experimentos de filtración rápida de mezcla rápida y recuento por centelleo de líquidos de los recuentos retenidos por filtro en presencia de 100 mM Na o 100 mM K cis gradientes dirigidos (hacia dentro). Tanto 2'-PP como 2'-FPP inhibieron la absorción de fosfato dependiente de Na en las vesículas de membrana del borde en cepillo intestinal. 2'-FPP era 12 veces más potente que 2'-PP a la hora de inhibir la absorción de fosfato dependiente de Na. El CI₅₀ aparente para 2'-PP era 46 nM ± 8 nM (n=4) similar a resultados previos (Peerce *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 301:8-12, 2003; Peerce and Clarke, *AM.J. Physiol.* 283:G848-G855, 2002). El CI₅₀ para 2'-FPP era 3,6 nM ± 0,06 nM (n=4).

Ejemplo B: El efecto de fosfotribencil en la hidrólisis de p-nitrofosfato mediante fosfatasa BBMV intestinales y fosfatasa alcalina de rata.

[0096] Los resultados mostrados en el Ejemplo A utilizaron una exposición de 3 segundos de vesículas y sustratos y una exposición de 5 minutos de vesículas a 2'-FPP. La exposición anterior y la degradación de 2'-PP a diferencia de 2'-FPP podrían contribuir a la potencia aumentada de 2'-FPP en comparación con 2'-PP. Con el

fin de examinar esta posibilidad se investigó el efecto de fosfofloreínas en la hidrólisis de p-nitrofosfato mediante fosfatasaes BBMV intestinales y fosfatasa alcalina de rata.

[0097] 2'-PP es un mejor inhibidor de la actividad de fosfatasa alcalina y de la actividad de fosfatasa BBMV intestinal que 2'-FPP. 2 mM 2'-PP resultó en aproximadamente 50 % de inhibición de la actividad de fosfatasa BBMV en comparación con menos del 10 % de inhibición de 2'-FPP. Coherentes con la interpretación de que la potencia de 2'-PP como inhibidor de la absorción de fosfato dependiente de Na se limitaba mediante la hidrólisis mediada por fosfatasa de 2'-PP, la adición de inhibidores de fosfatasa alcalina (ácido ascórbico + cisteína) disminuyó el CI_{50} de la inhibición de 2'-PP de la absorción de fosfato dependiente de Na 34 % (de 38 nM a 26 nM). Estos resultados indican que en comparación con 2'-PP, 2 factores son los responsables de la potencia aumentada de 2'-FPP como inhibidor de la absorción de fosfato dependiente de Na en las vesículas de membrana del borde en cepillo intestinal: 1) la resistencia aumentada de 2'-FPP a la degradación catalizada de fosfatasa de éster de fosfato y 2) la afinidad aumentada de fluorofosfatos para el sitio de fosfato del cotransportador de Na-fosfato intestinal en comparación con fosfato.

Ejemplo C: Duración del efecto de una única exposición de intestino de rata a 2'-FPP y 2'-PP

[0098] Para investigar la duración del efecto de una dosis única de 2'-FPP sobre la absorción de fosfato, se cortaron tiras intestinales (aproximadamente 5 cm cuadrados) y se incubaron en placas de cultivo celulares de 12 pocillos en presencia de 2'-FPP o 2'-PP durante 1 hora, seguido de la exposición a DMEM nuevo (Medio de Cultivo Eagle Modificado de Debecco), [^{32}P] fosfato y diferentes concentraciones de 2'-PP o 2'-FPP.

[0099] Una exposición única a 2'-FPP resultó en más de 60 % de inhibición de la absorción de fosfato y la inhibición fue estable durante 6 horas de exposición al fármaco posterior. Por el contrario, la exposición a 2'-PP tuvo como resultado un 40 % de inhibición de la absorción de fosfato que disminuyó a menos de 35 % de inhibición 6 horas de exposición al fármaco posterior. La absorción de glucosa no se vio afectada por la exposición ni a 2'-PP ni a 2'-FPP coherente con informes previos sobre el hecho de que las fosfofloreínas son específicas para el cotransporte Na-fosfato y que las tiras intestinales eran viables durante el transcurso del experimento.

[0100] Estos experimentos se expandieron para examinar el efecto de la concentración 2'-FPP sobre la absorción de fosfato.

[0101] Las tiras intestinales de yeyuno/duodeno de rata de 1 cm cuadrado se incubaron en DMEM a 37 °C y 5 % CO_2 durante una hora. Tras el periodo de incubación, se reemplazó el DMEM con 2'-FPP y las tiras se incubaron durante una hora adicional. Después de una exposición de 1 hora a 2'-FPP, se reemplazó el DMEM con un medio nuevo + 5 μCi de fosfato [^{32}P]. Las tiras se expusieron a fosfato marcador durante 1 hora, se precipitó con 10 % TCA y se centrifugó a 5000 g durante 30 minutos. Se tomó una alícuota del sobrenadante para el recuento por centelleo.

[0102] La absorción de fosfato dependiente de Na en el intestino se compone tanto de componentes dependientes de Na como independientes de Na. La absorción dependiente de Na en el duodeno y el yeyuno es aproximadamente 70 % dependiente de Na y 30 % independiente de Na en la absorción de fosfato. Los resultados son coherentes con la inhibición por parte de 2'-FPP del componente dependiente de Na que es dirigido por el cotransportador de Na/fosfato de la membrana del borde en cepillo intestinal, NaPi 2b. La inhibición máxima fue 67 % + 5 % (n=4) de la absorción total de fosfato. El CI_{50} aparente para 2'-FPP fue 160 nM + 20 nM (n=4). Esto se compara con una inhibición máxima bajo condiciones idénticas de 43 + 6 % (n=3) para 2'-PP y un CI_{50} de 15 μM \pm 3 μM (n=3).

Ejemplo D:

[0103] Se investigó el efecto de 2'-FPP sobre fosfato sérico y calcio sérico en ratas adultas de 4-5 meses con función renal normal. Se alimentó a las ratas de forma forzada diariamente con 3 ml de 0,5 μM 2'-FPP en solución salina fosfatada pH7. Aproximadamente 30 minutos más tarde, se expuso a las ratas a comida durante 3 horas. Después del periodo de alimentación, se retiró la comida. Las ratas tuvieron una exposición a agua *ad libitum*. El día 3^o del experimento, se extrajo sangre de la vena caudal antes de la alimentación forzada. A continuación se alimentó de forma forzada a los animales como anteriormente y se les expuso a comida. Se repitió este proceso en los días 5, 8, 11 y 14. El día 14 se sacrificaron los animales y finalizó el experimento. El fósforo y el calcio séricos y el BUN se determinaron mediante kits clínicos.

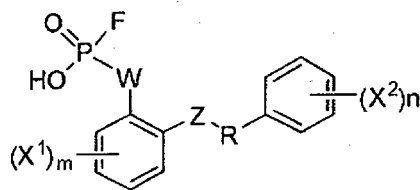
[0104] El fósforo sérico disminuyó 52 % \pm 6 % (n=8) en ratas adultas con función renal normal dentro de la primera semana de tratamiento con 2'-FPP y permaneció estable con 3 mg/dL para el resto del experimento de 2 semanas. Ca^{2+} sérico no se vio afectado por 2'-FPP disminuyendo menos del 2,5 % durante la exposición de 2 semanas a 2'-FPP. El BUN era 10 mg/dl al inicio del experimento y no cambió durante el transcurso del experimento. Los experimentos previos con condiciones idénticas llevados a cabo con 25 μM 2'-PP resultaron en

ES 2 561 672 T3

una disminución del $30\% \pm 4\%$ en fósforo sérico sin cambio en Ca^{2+} sérico.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde:

R es alquilo C_{2-4} ;

W se elige de NR^A , O y S;

Z se elige de un enlace simple, $-C(O)-$, NR^A , O y S;

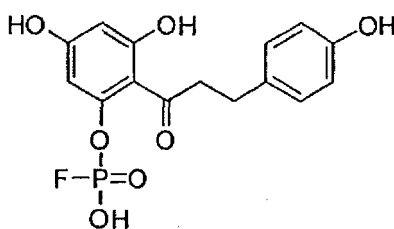
X^1 y X^2 se eligen de forma independiente de entre $-OH$, $-NHR^A$ y $-C(O)OH$;

R^A es H o alquilo C_{1-3} ;

m es 1, 2, 3 o 4; y

n es 1, 2, 3 o 4.

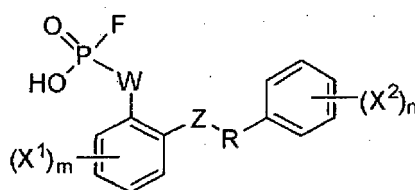
2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R es $-CH_2-CH_2-$ o $-CH_2-CH_2-CH_2-$.
3. Compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde W se elige de entre NR^A y O, preferiblemente O.
4. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde Z se elige de entre un enlace simple y $-C(O)-$, preferiblemente $-C(O)-$.
5. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde X^1 y X^2 se eligen de forma independiente de entre OH y NH_2 ; y donde preferiblemente tanto X^1 como X^2 son OH.
6. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde n y m son independientemente 1 o 2 y preferiblemente donde m es 2 y n es 1.
7. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde el compuesto es:



8. Composición que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.
9. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o composición de acuerdo con la reivindicación 8 para utilizarse como medicamento.
10. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o composición de acuerdo con la reivindicación 8 para utilizarse en el tratamiento de una enfermedad provocada por niveles elevados de fosfato en sangre o asociada a esto en un sujeto mamífero, tratamiento que comprende la identificación de un sujeto en el que se recomienda una reducción de los niveles de fosfato en sangre; y la administración al

sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto o composición.

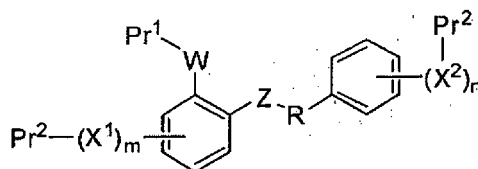
- 5 11. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o composición de acuerdo con la reivindicación 8 para utilizarse en el tratamiento de una enfermedad provocada por niveles elevados de fosfato en sangre o asociada a esto en un paciente que lo necesita, tratamiento que comprende la administración a dicho paciente de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto o composición.
- 10 12. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 donde la enfermedad es una insuficiencia renal crónica.
13. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 12 donde la insuficiencia renal crónica está asociada a la hiperfosfatemia, hiperparatiroidismo secundario, osteodistrofia renal, hipertensión, acidosis metabólica o enfermedad cardíaca y/o va acompañada de estos.
- 15 14. Proceso para preparar un compuesto de fórmula I:



I

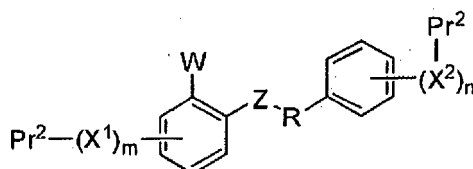
o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde R es alquilo C₂₋₄;
 30 W se elige de entre NR^A, O y S; Z se elige de entre un enlace simple, -C(O)-, NR^A, O y S; X¹ y X² se eligen cada uno de forma independiente de entre -OH, -NHR^A y -C(O)OH; R^A es H o alquilo C₁₋₃; m es 1, 2, 3 o 4; y n es 1, 2, 3 o 4;
 proceso que comprende:

- 35 a) la extracción de Pr¹ en presencia de Pr² de un compuesto de Fórmula I-1:



I-1

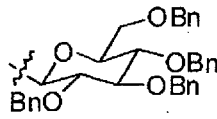
50 donde Pr¹ y Pr² son grupos protectores; para preparar un compuesto de Fórmula I-2:



I-2

y donde Pr¹ es preferiblemente

5



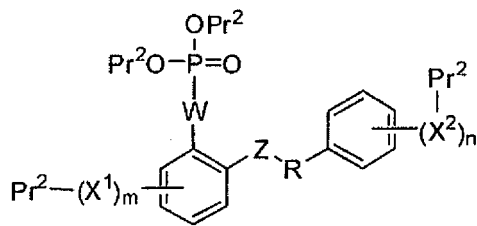
10

y Pr² es preferiblemente bencilo;

b) la reacción de un compuesto de Fórmula I-2 con un agente fosforilante para preparar un compuesto de Fórmula I-3:

15

20



25

I-3

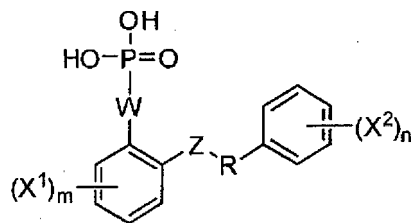
30

donde el agente fosforilante es preferiblemente un éster de fosfito, o ácido fosfónico y donde un éster de fosfito preferido es fosfito dibencilico y donde un ácido fosfónico preferido es ácido fluorofosfónico;

c) la extracción de Pr² de un compuesto de Fórmula I-3 con un agente reductor para preparar un compuesto de Fórmula I-4:

35

40



45

I-4

50

donde el agente reductor es preferiblemente gas hidrógeno y un metal de transición;

d) la reacción de un compuesto de Fórmula I-4 con un agente fluorante, preferiblemente dinitrofluorobenceno, para preparar dicho compuesto de Fórmula I.

55

15. Proceso de acuerdo con la reivindicación 14, donde el agente fluorante es ácido fluorhídrico.