

00-041901

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Organizacion CSA Ltda

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

00-41901

54. TÍTULO Nuevas Composiciones derivadas del ácido (-)
(3- trihalomethylfenoxi) (4- Halofenil) acéticos y Método para
el tratamiento de resistencia a la insulina, diabetes tipo
2, e hiperlipidemia

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 31/215

71. SOLICITANTE Metabolix, Inc y Diatex, Inc

DOMICILIO California, Estados Unidos

74. APODERADO Dilia Maria Rodriguez D'Aleman

22. BOGOTÁ, D. C., Junio 6, 2000

202037



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

00-41901

54. TITULO Nuevas composiciones derivadas de ácido (-) (3-trihalometilpenoxi) (4-Halopenil) acéticos y Método para el tratamiento de resistencia a la insulina, diabetes Tipo 2, e hiperlipidemia

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K³¹/215.

71. SOLICITANTE Metabolex, Inc y Diatex, Inc

DOMICILIO

California, Estados Unidos

74. APODERADO Lilia Maria Rodriguez D' Aleman

2. SANTAFE DE BOGOTA, D.C. Junio 6, 2000

202037

05

AC

REPUBLICA DE COLOMBIA

SIC SUPERINTENDENCIA
DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES



CITUD D
E D
CIO

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00041901 00000000

Folios: 97

Fecha (AMD): 2000-06-06 16:51:16

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombre y Apellidos o Razón Social

1) METABOLEX, INC.
2) DIATEX, INC

Nº de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

Departamento o Estado

Ciudad

Dirección

1) y 2)

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA
CALIFORNIA
HAYWARD

3876 Bay Center Place Hayward, California 94545

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

Dirección

DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

Carrera 11 numero 93-43 oficina 404, Santafe de Bogotá, S.A.

DATOS DEL INVENTOR Son (2) Inventores Nacionalidad

(72) Nombre del Inventor (es)

1) Kenneth, L. Luskey, M.D. - Estadoudinense

2) Jian Luo, M.D. Estadoudinense

1) 21185 Toll Gate Road, Saratoga, CA 95070 USA

2) 240 Klamath Street, Brisbane, CA 94005 USA

Identificación

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención

NUEVAS COMPOSICIONES DERIVADAS DE ÁCIDO (-)(3-TRIFALOMETILFENOXI)(4-HALOFENIL) ACÉTICOS Y MÉTODO PARA EL TRATAMIENTO DE RESISTENCIA A LA INSULINA, DIABETES TIPO 2 E HIPERLIPIDEMIA

PRIORIDAD REIVINDICADA

Sí ☒

No ☐

(33) ESTADOS UNIDOS

(32) JUNIO 4, 1999

(31) N° Solicitud 09/325,997

Fuente Normativa: Convenio de París Art.4º

CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K31/215

CLPA 341

SRR



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 900174089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00041901 00000000

Folios: 97

Fecha (AMD): 2000-06-06 16:51:16

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 33,552

RECIBO : MAYO 29 DE 2000

**** CONSIGNACION ****

DEBITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	VF. PAGO
CLAYTON MODET Y CO. COLOMBIA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050 00024.9	99952	1,000,000.00

**** CONCEPTO ****

CANT.	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1
	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	100,000.00
	TOTAL :	100,000.00

SOL. SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE N°.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

NUEVAS COMPOSICIONES DERIVADAS DE ÁCIDO (-)(3-TRIHALOMETILFENOXI)(4-HALOFENIL) ACÉTICOS Y MÉTODO PARA EL TRATAMIENTO DE RESISTENCIA A LA INSULINA, DIABETES TIPO 2 E HIPERLIPIDEMIA

La presente invención provee el uso de derivados y composiciones de ácido (-) (3-trihalometoxi) (4-halofenil) acético en el tratamiento de la resistencia a la insulina, de la diabetes tipo 2 y de la hiperlipidemia.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

- | | |
|---|-------------------------------------|
| Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica | ☐ |
| Poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la S.I.C. | ☐ |
| Recibo de la tasa respectiva | ☒ |
| Si se reivindica prioridad, el certificado respectivo (copia legalizada) | ☐ |
| Traducción oficial | ☐ |
| Capítulo descriptivo | ☒ |
| Dibujos, planos necesarios | ☒ |
| Capítulo reivindicatorio | ☒ |
| Tarjeta archivo propietario según formato | ☒ |
| Tarjeta archivo temático según formato | ☒ |
| Extracto para resumen o para publicación según formato | ☒ |
| Arte final 12 x 12 cms | ☒ |

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD



FIRMA DEL APODERADO

C.C. 41.654.882

TP N° 20824 CSJ

RESUP341

4

NUEVAS COMPOSICIONES DERIVADAS DE ACIDO (-) (3- TRIHALOMETILFENOXI) (4- HALOFENIL) ACÉTICOS Y METODOS PARA EL TRATAMIENTO DE RESISTENCIA A LA INSULINA, DIABETES TIPO 2, E HIPERLIPIDEMIA

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con el uso de derivados y composiciones de ácido (-) (3- trihalometoxi) (4- halofenil) acético en el tratamiento de la resistencia a la insulina, de la diabetes tipo 2 y de la hiperlipidemia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La diabetes mellitus, comúnmente llamada diabetes, es un proceso de enfermedad que deriva de múltiples factores causales y que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en plasma, situación que se conoce como hiperglucemia. Véase, por ejemplo, LeRoith, D et al (editores), DIABETES MELLITUS (Lppincott – Raven Publishers, Filadelfia, PA, EEUU, 1996) y todas las referencias allí citadas. De acuerdo con la Asociación Americana de la Diabetes, se estima que la diabetes mellitus afecta aproximadamente a un 6% de la población mundial. La hiperglucemia descontrolada está asociada con una mortalidad prematura incrementada debido a un mayor riesgo de enfermedades microvasculares y macrovasculares, incluyendo nefropatías, neuropatías, retinopatías, hipertensión, enfermedades cerebrovasculares y enfermedades coronarias del corazón. Entonces, el control de la homeostasis de la glucosa es una aproximación de importancia crítica para el tratamiento de la diabetes.

Existen dos formas mayores de diabetes: la diabetes tipo 1 (conocida anteriormente como la diabetes insulino dependiente o IDDM) y la diabetes tipo 2 (conocida anteriormente como la diabetes no insulino dependiente o NIDDM).

La diabetes tipo 1 es el resultado de una deficiencia absoluta de insulina, la hormona que regula la utilización de glucosa. La deficiencia de insulina se caracteriza comúnmente por la destrucción de las células β dentro de los Islotes de Langerhans en el páncreas, lo que conduce comúnmente a una deficiencia absoluta de insulina. La diabetes tipo 1 tiene dos formas: la Diabetes Mellitus Mediada por el Sistema Inmune, que resulta de una destrucción autoinmune mediada por células de las células β del páncreas, y la Diabetes Mellitus Idiopática, que se refiere a formas de la enfermedad que no tienen etiologías conocidas.

La diabetes tipo 2 es una enfermedad caracterizada por una resistencia a la insulina acompañada por una deficiencia relativa, en vez de absoluta, de insulina. La diabetes tipo 2 puede ir de una resistencia predominante a la insulina con una deficiencia relativa de insulina a una deficiencia predominante de insulina con alguna resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina es la capacidad disminuida de la insulina para llevar a cabo su acción biológica a lo largo de un amplio rango de concentraciones. En los individuos resistentes a la insulina, el cuerpo secreta cantidades anormalmente altas de insulina para compensar este defecto. Cuando existen cantidades inadecuadas de insulina para compensar la resistencia a la insulina y controlar adecuadamente la glucosa, se desarrolla un estado de tolerancia disminuida a la glucosa. En una cantidad significativa de individuos, la secreción de insulina declina aún más y aumenta el nivel de glucosa en plasma, lo que resulta en un estado clínico de diabetes. La diabetes tipo 2 puede deberse a una resistencia profunda a los efectos reguladores estimulantes de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa y de los lípidos en los principales tejidos sensibles a la insulina: los músculos, el hígado, y el tejido adiposo. La resistencia a la respuesta frente a la insulina resulta en una activación insuficiente por parte de la insulina de la ingesta de glucosa, de su oxidación y de su almacenamiento en el músculo, y en una represión inadecuada por parte de la insulina de la lipólisis en el tejido adiposo y de la producción y secreción de glucosa en el hígado. En la diabetes tipo 2, los niveles de ácidos grasos libres están comúnmente elevados en pacientes obesos y en algunos no obesos, y la oxidación de lípidos se encuentra incrementada.

El desarrollo prematuro de arteriosclerosis y la tasa incrementada de enfermedades cardiovasculares y vasculares periféricas son síntomas característicos de pacientes con diabetes. La hiperlipidemia es un factor precipitador importante para estas enfermedades. La hiperlipidemia es una condición caracterizada generalmente por un aumento anormal en los lípidos en suero en el flujo sanguíneo, y es un factor de riesgo importante en el desarrollo de la arteriosclerosis y de las enfermedades del corazón. Para una revisión de las afecciones en el metabolismo de los lípidos, véase, por ejemplo, Wilson, J et al (editor), Disorders of Lipid Metabolism, Capítulo 23, Textbook of Endocrinology, 9ª Edición (W B Sanders Company, Filadelfia, PA; EEUU,

1998; esta referencia y todas las referencias citadas en ella se incorporan a modo de referencia en la presente documentación). Las lipoproteínas en suero son los vehículos para los lípidos en la circulación. Se clasifican de acuerdo con su densidad: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). La hiperlipidemia se clasifica comúnmente como hiperlipidemia primaria o secundaria. La hiperlipidemia primaria es causada generalmente por defectos genéticos, mientras que la hiperlipidemia secundaria es causada generalmente por otros factores, tales como varios estados de enfermedad, drogas y factores dietarios. Como alternativa, la hiperlipidemia puede surgir a partir de una combinación de causas primarias y secundarias de hiperlipidemia. Los niveles elevados de colesterol se asocian con una cantidad de estados de enfermedad, incluyendo enfermedades de la arteria coronaria, angina de pecho, enfermedades de la arteria carótida, arteriosclerosis cerebral y xantoma.

La dislipidemia, o los niveles anormales de lipoproteínas en plasma sanguíneo, es una ocurrencia frecuente entre los diabéticos, y se ha demostrado que es una de las causas principales de la incidencia incrementada de sucesos coronarios y de muerte entre los sujetos diabéticos (véase, por ejemplo, Joslin, E, Ann Chim Med (1927) 5: 1061-1079). Los estudios epidemiológicos desde ese momento han confirmado la asociación y han mostrado un aumento de varios órdenes en las muertes coronarias entre los sujetos diabéticos en comparación con los sujetos no diabéticos (véanse, por ejemplo, Garcia, M J et al, Diabetes (1974) 23: 105-11 (1974); y Laakso, M y Lehto, S, Diabetes Reviews (1997) 5(4): 294-315). Se han descrito varias anomalías relacionadas con lipoproteínas entre sujetos diabéticos (Howard, B et al, Artherosclerosis (1978) 30: 153-162).

Estudios previos de la década del '70 han demostrado la efectividad del acetato de 2- acetamidoetil (4- clorofenil) (3- triflorometilfenoxilo) racémico (conocido también como "halofenato") como un agente terapéutico potencial para tratar la diabetes tipo 2 y la hiperlipidemia (véanse, por ejemplo, Bolhofer, E Patente de los EEUU N° 3517050; Jain, A et al, N Eng J Med (1975) 293: 1283-1286; Kudzma, D et al, Diabetes (1977) 25: 291-95; Kohl, E et al, Diabetes Care (1984) 7: 19-24; McMahon, F G et al, Univ

Mich Med Center J (1970) 36: 247-248; Simori, C et al, Lipids (1972) 7: 96-99; Morgan, J P et al, Clin Pharmacol Therap (1971) 12: 517-524 y Aronow, W S et al, Clin Pharmacol Ther (1973) 14: 358-365). En estos estudios previos, se observó el efecto del halofenato racémico sobre la diabetes cuando se lo combinaba con sulfonilureas. Se observó un efecto mínimo sobre la glucosa en pacientes con diabetes tratada con halofenato racémico por sí solo. Sin embargo, se verificaron efectos laterales significativos, los cuales incluyeron sangrado gastrointestinal del estómago y úlceras pépticas (véase, por ejemplo, Friednerg, S J et al, Clin Res (1986) Volumen 34, N° 2: 682A).

Además, existen algunas indicaciones de interacciones entre drogas para el halofenato racémico con agentes tales como el sulfato de warfarina (también conocido como 3- (alfa - acetoniibencil) -4- hidroxycumarina o Coumadin™ (Dupont Pharmaceuticals, E I Dupont de Nemours and Co, Inc, Wilmington, DE; EEUU) (véase, por ejemplo, Vesell, E S y Passantanti, G T, Fed Proc (1972) 31(2): 538). Coumadin™ es un anticoagulante que actúa inhibiendo la síntesis de los factores de coagulación dependientes de vitamina K (los cuales incluyen los factores II, VII, IX y X, y las proteínas anticoagulantes C y S). Se cree que el Coumadin™ es metabolizado estereoespecíficamente por las enzimas microsomales hepáticas (las enzimas citocromo P450). Las isozimas del citocromo P450 involucradas en el metabolismo del Coumadin incluyen 2C9, 2C19, 2C8, 2C18, 1A2 y 3A4. Es probable que 2C9 sea una forma principal de la P450 del hígado humano, la cual modula el metabolismo in vivo de drogas para varias drogas, incluyendo la actividad anticoagulante del Coumadin™ (véase, por ejemplo, Miners, J O et al, Bri J Clin Pharmacol (1998) 45: 525-538).

Las drogas que inhiben el metabolismo del Coumadin™ resultan en una disminución adicional de los factores de coagulación dependientes de vitamina K, lo cual evita la coagulación más que deseada en pacientes que reciben tal terapia (es decir, en pacientes en riesgo de embolia pulmonar o cerebral a partir de coágulos de sangre en sus extremidades inferiores, en el corazón o en otros sitios). Una simple reducción en la dosis de anticoagulante resulta comúnmente difícil ya que es necesario mantener una anticoagulación adecuada para evitar la formación de coágulos de sangre. La anticoagulación incrementada producida por la interacción entre drogas

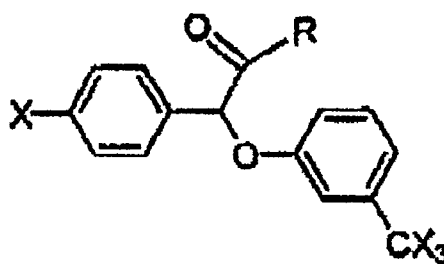
resulta en un riesgo significativo para tales pacientes, con la posibilidad de un sangrado severo a partir de heridas en tejidos blandos, de sitios gastrointestinales (es decir, úlceras gástricas o duodenales) o de otras lesiones (es decir, aneurisma aórtico). El sangrado frente a una anticoagulación excesiva constituye una emergencia médica y puede resultar en la muerte si no se lo trata de inmediato con una terapia apropiada.

Se sabe también que el citocromo P450 2C9 está involucrado en el metabolismo de varias otras drogas de uso común, incluyendo la dilantina, las sulfonilureas, tales como la tolbutamida, y varios agentes anti - inflamatorios no esteroideos, tales como el ibuprofeno. La inhibición de esta enzima tiene el potencial de causar otros efectos adversos relacionados con las interacciones entre drogas, además de aquellos descritos anteriormente para el CoumadinTM (véanse, por ejemplo, Pelkonen, O et al, Xenobiotica (1998) 28: 1203-1253; Linn, J H y Lu, A Y, Clin Pharmacokinet (1998) 35(5): 361-390).

Se necesitan entonces soluciones a las dificultades y a las deficiencias anteriores antes de que el halofenato pueda ser efectivo para el tratamiento rutinario de la resistencia a la insulina, de la diabetes tipo 2 y de la hiperlipidemia, presentado al mismo tiempo un mejor perfil de efectos adversos.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención provee un método para modular la diabetes tipo 2 en un mamífero. El método comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de Fórmula I,

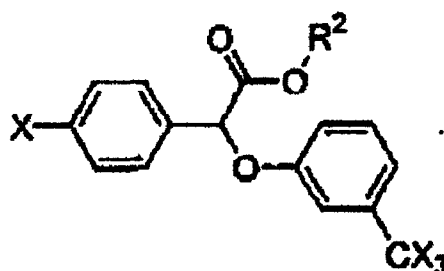


(I)

en el cual R es un miembro seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, aralcoxilo inferior, di - alquilamino inferior - alcoxilo inferior, alcanamido inferior alcoxilo inferior, benzamido - alcoxilo inferior, N' - alquilo inferior - ureido - alcoxilo inferior, carbamilo - alcoxilo inferior, alcoxilo inferior sustituido con halofenoxilo, fenoxilo sustituido con

carbamilo, carbonilo - alquilamino inferior, N, N - di - alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxilo inferior, ureido y alcóxicarbonilamino inferior, y X es halógeno; o una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico en la cual el compuesto está sustancialmente libre de su estereoisómero (+).

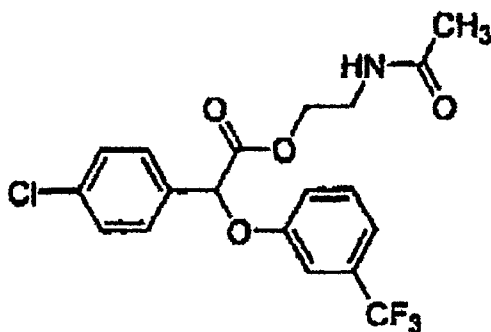
Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula II:



(II)

en el cual R^2 es un miembro seleccionado del grupo que consiste en fenilo - alquilo inferior, alcanamido inferior - alquilo inferior y benzamido - alquilo inferior.

Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula III:



(III)

El compuesto preferido de fórmula III se conoce como "(-) acetato de 2-acetamidoetil (4- clorofenil) (3- triflorometilfenoxilo)" o "halofenato (-)".

La presente invención provee además un método para modular la resistencia a la insulina en un mamífero. Este método comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de Fórmula I. Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula II. Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula III.

La presente invención provee además un método para aliviar la hiperlipidemia en un mamífero. Este método comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de Fórmula I. Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula II. Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula III.

La presente invención provee también composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas comprenden un vehículo aceptable para el uso farmacéutico y una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula I, de Fórmula II o de Fórmula III.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra la inhibición de la actividad del citocromo P450 2C9 (CYP2C9) por el ácido halofénico racémico, por el ácido halofénico (-) y por el ácido halofénico (+). La hidroxilación de la tolbutamida se midió en presencia de concentraciones crecientes de estos compuestos. El ácido halofénico racémico inhibió la actividad de CYP 2C9 con una IC_{50} de 0,45 μ M y el ácido halofénico (+) inhibió CYP 2C9 con una IC_{50} de 0,22 μ M. En contraste, el ácido halofénico (-) fue 20 veces menos potente, con una IC_{50} aparente de 3,5 μ M.

La Figura 2 muestra el curso de la disminución en la glucosa después de una dosis oral única de halofenato racémico, del enantiómero (-) del halofenato o del enantiómero (+) del halofenato a 250 mg/kg en ratones diabéticos ob/ob. El enantiómero (-) mostró el inicio más rápido de la acción y la mayor duración de la acción. La disminución en la glucosa fue significativa ($p < 0,05$) para el enantiómero (-) en comparación con el control para todos los puntos de 3 a 24 horas. El halofenato racémico y el enantiómero (+) resultaron también significativos ($p < 0,05$) para todos los puntos de 4,5 a 24 horas. La glucosa en plasma a las 24 horas fue de $217 \pm 16,4$ mg/dl en animales tratados con el enantiómero (-), comparada con los $306 \pm 28,5$ mg/dl y los $259,3 \pm 20,8$ mg/dl de los animales tratados con el enantiómero (+) o con el racemato, respectivamente. La glucosa en plasma para los controles tratados con vehículo fue de $408 \pm 16,2$ mg/dl a las 24 horas. El enantiómero (-) fue más efectivo y significativamente distinto ($p < 0,05$) del enantiómero (+) en los puntos de tiempo de 3 horas y de 24 horas.

La Figura 3 muestra la capacidad del halofenato racémico y de los enantiómeros (-) y (+) del halofenato de disminuir la glucosa en plasma en ratones diabéticos ob/ob después de una administración oral diaria. El racemato se entregó a una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros se entregaron a dosis de 125 mg/kg/día y de 250 mg/kg/día. Se observaron disminuciones significativas en los niveles de glucosa, respecto de los animales control, en animales tratados con halofenato racémico y con los enantiómeros (-) y (+). A la dosis más baja (125 mg/kg) del tratamiento con los enantiómeros (-) y (+), el enantiómero (-) fue significativo a las 6, 27 y 30 horas, mientras que el enantiómero (+) fue significativo solamente a las 6 y a las 27 horas.

La Figura 4 muestra los niveles de insulina en los ratones ob/ob tratados con el halofenato racémico y con los enantiómeros (-) y (+) en ratones diabéticos ob/ob después de una administración oral diaria. El racemato se entregó a una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros se entregaron a dosis de 125 mg/kg/día y de 250 mg/kg/día. Respecto del control con vehículo, el nivel de insulina fue menor en los animales tratados con el racemato o con los enantiómeros de halofenato. A la dosis mayor, la mayor extensión de insulina reducida en plasma se verificó a las 27 y 30 horas en animales tratados con los enantiómeros (-) y (+) del halofenato después de dos días de tratamiento.

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

La Figura 6 muestra los niveles de insulina en plasma después de un ayuno de una noche en los ratones ob/ob tratados con vehículo, con halofenato racémico a 250 mg/kg/día, con el enantiómero (-) a 125 mg/kg/día y a 250 mg/kg/día, o con el

enantiómero (+) del halofenato a 125 mg/kg/día o a 250 mg/kg/día por 5 días. Se observaron insulinas significativamente más bajas en plasma en los animales que recibieron ambas dosis del enantiómero (-). La dosis baja del enantiómero (+) del halofenato no disminuyó la insulina en plasma, aunque la dosis mayor del enantiómero (+) resultó en una disminución de la insulina en plasma.

La Figura 7A muestra los niveles de glucosa en plasma después de un suministro oral de glucosa en ratas adiposas Zucker, un modelo de resistencia a la insulina y de Tolerancia Disminuida a la Glucosa. Estos animales se trataron con un vehículo control, con halofenato racémico, con halofenato (-) o con halofenato (+) por 5,5 horas antes del suministro de glucosa. El racemato se entregó a 100 mg/kg y ambos enantiómeros se entregaron a 50 y 100 mg/kg. En los animales control, la glucosa ascendió hasta más de 250 mg/dl 30 minutos después del suministro, una indicación clara de tolerancia disminuida a la glucosa. La glucosa en plasma se redujo en las ratas que habían recibido halofenato racémico, especialmente entre 30 y 60 minutos después del suministro. Los animales que recibieron el halofenato (-) a 100 mg/kg tuvieron el mayor grado de disminución en la glucosa de todos los animales tratados. Los animales tratados con el halofenato (-) tuvieron menores niveles de glucosa que persistieron a los 90-120 minutos, en comparación con aquellas ratas tratadas con el racemato o con el halofenato (+). La Figura 7B compara el área de aumento bajo la curva (AUC) para los animales en cada grupo. Se distinguieron cambios significativos ($p < 0,05$) en los grupos tratados con ambas dosis del halofenato (-). Aunque la AUC fue menor en los otros grupos respecto del control, los cambios no resultaron significativos.

La Figura 8 muestra los resultados de una prueba de tolerancia breve a la insulina en ratas adiposas Zucker que fueron tratadas con un vehículo control, con halofenato (-) (50 mg/kg/día) o con halofenato (+) (50 mg/kg/día) por 5 días. Esta prueba es una medida de la sensibilidad a la insulina de los animales evaluados, representando la pendiente de la disminución en la glucosa una mediada directa de la capacidad de respuesta a la insulina. Los animales tratados con halofenato (-) resultaron significativamente más sensibles a la insulina que los animales tratados con vehículo ($p < 0,01$) o con halofenato (+) ($p < 0,05$).

La Figura 9A muestra los niveles de colesterol en plasma en ratas diabéticas adiposas Zucker tratadas por 13 días con halofenato racémico, con el enantiómero (-) o con el enantiómero (+) a 50 mg/kg/día, 25 mg/kg/día o 25 mg/kg/día, respectivamente, respecto de un grupo control tratado con vehículo. Tanto en los animales tratados con enantiómero (-) como en los animales tratados con el racemato, el colesterol en plasma disminuyó con el tratamiento. El colesterol en los animales tratados con el enantiómero (+) permaneció relativamente constante, mientras que el colesterol aumentó en los animales control. La Figura 9B compara las diferencias en el colesterol en plasma entre el grupo control y los grupos tratados. El enantiómero (-) fue la más activa de las especies evaluadas.

La Figura 10A muestra los niveles de colesterol en plasma en ratas diabéticas adiposas Zucker tratadas por 14 días con el enantiómero (-) o con el enantiómero (+) del halofenato a 12,5 mg/kg/día (baja dosis) o a 37,5 mg/kg/día (alta dosis) respecto de un grupo control tratado con vehículo. En los animales tratados con la dosis alta, el enantiómero (-) resultó en la mayor extensión de la disminución en el colesterol. La Figura 10B compara las diferencias en el colesterol en plasma entre los grupos control y tratados. Existieron diferencias significativas en los animales tratados con el enantiómero (-) después de 7 días en la dosis baja y después de 7 y 14 días en la dosis alta. El enantiómero (+) mostró significación solamente después de 7 días de tratamiento a la dosis mayor.

La Figura 11A muestra los niveles de triglicéridos en plasma en ratas diabéticas adiposas Zucker tratadas por 14 días con el enantiómero (-) o con el enantiómero (+) del halofenato a 12,5 mg/kg/día (baja dosis) o a 37,5 mg/kg/día (alta dosis) respecto de un grupo control tratado con vehículo. Los animales tratados con la dosis alta del enantiómero (-) tuvieron los niveles de triglicéridos menores en todos los grupos de tratamiento. La Figura 11B compara las diferencias en los triglicéridos en plasma entre los grupos control y tratados. A los 7 días, la dosis alta de los enantiómeros (+) y (-) mostró una disminución significativa de los triglicéridos en plasma.

La Figura 12 muestra los niveles de glucosa en plasma en ratas diabéticas adiposas Zucker tratadas con vehículo, con halofenato (-) o con halofenato (+) en los días 0, 2 y 3. El tratamiento con halofenato (-) redujo significativamente las

concentraciones de glucosa en plasma en comparación con los animales tratados con vehículo.

La Figura 13 muestra las concentraciones de glucosa en plasma en un grupo control de ratones C57BL/6J db/db versus un grupo tratado con halofenato (-). Los niveles de glucosa en plasma en el grupo control aumentaron progresivamente a medida que los animales crecieron, mientras que el incremento de la glucosa en plasma en los animales tratados con halofenato (-) pudo ser evitado o demorado significativamente.

La Figura 14 muestra los niveles de insulina en plasma en un grupo control de ratones C57BL/6J db/db versus un grupo tratado con halofenato (-). El tratamiento con halofenato (-) mantuvo la concentración de insulina en plasma, mientras que la insulina en plasma del grupo control disminuyó progresivamente.

La Figura 15 muestra el porcentaje de ratones no diabéticos en un grupo control de ratones C57BL/6J db/db versus un grupo tratado con halofenato (-). Alrededor de 30% de los ratones en el grupo tratado con halofenato (-) no desarrollaron diabetes (niveles de glucosa en plasma > 250 mg/dl), mientras que todo el grupo control lo hizo para la edad de 10 semanas.

La Figura 16 muestra los niveles de triglicéridos en un grupo control de ratones C57BL/6J db/db versus un grupo tratado con halofenato (-). El tratamiento con halofenato (-) alivió la hiperlipidemia, mientras que no hubo tal alivio en el grupo control.

DEFINICIONES

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

El término "resistencia a la insulina" puede definirse generalmente como una afección en el metabolismo de la glucosa. Más específicamente, la resistencia a la insulina puede definirse como la capacidad disminuida de la insulina de llevar a cabo su acción biológica a lo largo de un amplio de concentraciones, produciendo menos que el efecto biológico esperado (véanse, por ejemplo, Reaven, G M, J Basic & Clin Phys & Pharm (1998) 9: 387-406 y Flier, J Ann Rev Med (1983) 34: 145-60). Las

personas resistentes a la insulina tienen una capacidad disminuida de metabolizar la glucosa y responden pobremente, si lo hacen, a la terapia con insulina. Las manifestaciones de resistencia a la insulina incluyen una activación insuficiente por parte de la insulina de la ingesta de glucosa, de su oxidación y de su almacenamiento en el músculo, y en una represión inadecuada por parte de la insulina de la lipólisis en el tejido adiposo y de la producción y secreción de glucosa en el hígado. La resistencia a la insulina puede causar o contribuir al síndrome de ovarios policísticos, a la tolerancia disminuida a la glucosa (IGT), a la diabetes gestacional, a la hipertensión, a la obesidad, a la arteriosclerosis y a una variedad de otras afecciones. Eventualmente, los individuos resistentes a la insulina pueden progresar hasta un punto en el cual se alcanza un estado diabético. La asociación de la resistencia a la insulina con la intolerancia a la glucosa, con un aumento en los triglicéridos en plasma y con una disminución en las concentraciones de las lipoproteínas de baja densidad del colesterol, con una presión sanguínea elevada, con hiperuricemia, con partículas de lipoproteínas de baja densidad de menor tamaño y mayor densidad, y con mayores niveles circulantes de inhibidor activador del plasminógeno -1, ha sido denominada "Síndrome X" (véase, por ejemplo, Raven, G M, *Physiol Rev* (1995) 75: 473-486).

El término "diabetes mellitus" o "diabetes" significa una enfermedad o una condición que se caracteriza generalmente por los defectos metabólicos en la producción y la utilización de glucosa, lo que puede resultar en la falla para mantener niveles apropiados de azúcar en sangre en el cuerpo. El resultado de estos defectos es una glucosa en sangre elevada, conocida como "hiperglucemia". Las dos formas mayores de diabetes son la diabetes tipo 1 y la diabetes tipo 2. Como se describió anteriormente, la diabetes tipo 1 es generalmente el resultado de una deficiencia absoluta de insulina, la hormona que regula la utilización de la glucosa. La diabetes tipo 2 ocurre generalmente frente a niveles normales o aún elevados de insulina y puede resultar de la incapacidad de los tejidos para responder apropiadamente a la insulina. La mayor parte de los pacientes que padecen de diabetes tipo 2 son resistentes a la insulina y tienen una deficiencia relativa de insulina, ya que la secreción de insulina no puede compensar la resistencia de los tejidos periféricos para que respondan a la insulina. Además, muchos diabéticos tipo 2 son obesos. Otros tipos

de afecciones en la homeostasis de la glucosa incluyen la tolerancia disminuida a la glucosa, el cual es un estadio metabólico intermedio entre la homeostasis normal a la glucosa y la diabetes, y la Diabetes Mellitus Gestacional, que es la intolerancia a la glucosa durante el embarazo en mujeres sin historia previa de diabetes tipo 1 o tipo 2.

El término "diabetes secundaria" es una diabetes que resulta de otras etiologías identificables, las cuales incluyen: defectos genéticos en las funciones de las células β (por ejemplo, diabetes juvenil tipo del tipo del inicio de la madurez, conocida como "MODY", que es una forma cercana al inicio de la diabetes tipo 2 con herencia autosómica; véanse, por ejemplo, Fajans, S et al, Diabet Med (1996) (9 Suplemento 6): S90-5 y Bell, G et al, Annu Rev Physiol (1996) 58: 171-86); defectos genéticos en la acción de la insulina (por ejemplo, hormona del crecimiento en la acromegalia y cortisol en el síndrome de Cushing); algunas drogas que suprimen la secreción de insulina (por ejemplo, fenitoina) o inhiben la acción de la insulina (por ejemplo, estrógenos y glucocorticoides), y diabetes causada por infección (por ejemplo, rubéola, Coxsackie y CMV), así como otros síndromes genéticos.

Las guías para la diagnosis de la diabetes tipo 2, para la tolerancia disminuida a la glucosa y para la diabetes gestacional han sido detalladas por la Asociación Americana de la Diabetes (véase, por ejemplo, The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care, (1999) Volumen 2 (Suplemento 1): S5-19).

El término "ácido halofénico" se refiere a la forma ácida del ácido 4- clorofenil (3-triflorometilfenoxi) acético.

El término "hiperinsulinemia" se refiere a la presencia de un nivel anormalmente elevado de insulina en la sangre.

El término "secretógeno" significa una sustancia o un compuesto que estimula la secreción. Por ejemplo, un secretógeno de insulina es una sustancia o un compuesto que estimula la secreción de insulina.

El término "hemoglobina" o "Hb" se refiere a un pigmento respiratorio presente en los eritrocitos, mayormente responsable del transporte de oxígeno. Una molécula de hemoglobina comprende cuatro subunidades de polipéptido (dos sistemas de cadenas α y dos sistemas de cadenas β , respectivamente). Cada subunidad está formada por la

asociación de una proteína globina y de una molécula de hemo, la cual es un complejo de hierro – porfirina. La mayor clase de hemoglobina presente en el hemolisado de un adulto normal es la hemoglobina adulta (conocida como "HbA"; también conocida como HbA₀ para distinguirla de la hemoglobina glicada, que se conoce como "HbA₁", descripta a continuación), la cual tiene subunidades $\alpha_2\beta_2$. Pueden hallarse también componentes traza tales como HbA₂ ($\alpha_2\beta_2$) en el hemolisado de un adulto normal.

Entre las clases de hemoglobinas adultas HbA, existe la hemoglobina glicada (conocida como "HbA₁" o "hemoglobina glicosilada"), que puede ser adicionalmente fraccionada en HbA_{1a1}, HbA_{1a2}, HbA_{1b} y HbA_{1c} con un fraccionamiento en columna de intercambio de iones. Todas estas subclases tienen la misma estructura primaria, la cual es estabilizada por la formación de una adimina (base de Schiff) por el grupo amino de la valina N – terminal en la cadena de la subunidad β de la hemoglobina HbA y la glucosa (o glucosa –6- fosfato o fructosa) seguida por la formación de una cetomina por un rearrreglo de Amadori.

El término "hemoglobina glicosilada" (también conocida como "HbA_{1c}", GHb", "hemoglobina – glicosilada", "índice de control diabético" y "glicohemoglobina", denominada de aquí en más "hemoglobina A_{1c}") se refiere al producto estable de la glicosilación monoenzimática de la cadena β de la hemoglobina por la glucosa en plasma. La hemoglobina A_{1c} comprende la porción principal de las hemoglobinas glicadas en la sangre. La relación de hemoglobina glicosilada es proporcional al nivel de glucosa en sangre. Entonces, la tasa de formación de la hemoglobina A_{1c} se incrementa directamente con el aumento en los niveles de glucosa en plasma. Ya que la glicosilación ocurre a una tasa constante durante la vida promedio de 120 días de un eritrocito, la medición de los niveles de hemoglobina glicosilada refleja el nivel promedio de glucosa en sangre para un individuo durante los dos o tres meses precedentes. Entonces, la determinación de la cantidad de hemoglobina glicosilada HbA_{1c} puede ser un buen índice del control del metabolismo de los carbohidratos. De acuerdo con esto, los niveles de glucosa en sangre de los últimos dos meses pueden ser estimados sobre la base de la relación entre la HbA_{1c} y la hemoglobina total Hb. El análisis de la hemoglobina A_{1c} en sangre se usa como una medición que permite el

control a largo plazo del nivel de glucosa en sangre (véanse, por ejemplo, Jain, S et al, Diabetes (1989) 38: 1539-1543; Peters, A et al, JAMA (1996) 276: 1246-1252).

El término "síntoma" de diabetes incluye, sin limitaciones, poliuria, polidipsia y polifagia, como se lo usa en la presente documentación, incorporando su uso común. Por ejemplo, "poliuria" significa el pasaje de un gran volumen de orina durante un período dado, "polidipsia" significa una sed crónica excesiva y "polifagia" significa una alimentación excesiva. Otros síntomas de la diabetes incluyen, por ejemplo, una susceptibilidad incrementada a algunas infecciones (especialmente infecciones de hongos y de estafilococos), náuseas y cetoacidosis (producción aumentada de cuerpos cetónicos en la sangre).

El término "complicación" de la diabetes incluye, sin limitaciones, complicaciones microvasculares y complicaciones macrovasculares. Las complicaciones microvasculares son aquellas complicaciones que generalmente resultan en daños sobre pequeños vasos sanguíneos. Estas complicaciones incluyen, por ejemplo, la retinopatía (el deterioro o la pérdida de la visión debido a daños en los vasos de los ojos), la neuropatía (daños en los nervios y problemas en los pies debido a daños en los vasos del sistema nervioso) y la nefropatía (daño en los riñones debido a daños en los vasos sanguíneos de los riñones). Las complicaciones macrovasculares son aquellas complicaciones que resultan generalmente de daños sobre los grandes vasos sanguíneos. Estas complicaciones incluyen, por ejemplo, enfermedades cardiovasculares y enfermedades vasculares periféricas. Las enfermedades cardiovasculares se refieren a enfermedades en los vasos sanguíneos del corazón. Véase, por ejemplo, Kaplan, R M et al, "Cardiovascular Diseases" en HEALTH AND HUMAN BEHAVIOUR, páginas 206-242 (McGraw - Hill, Nueva York, 1993). Las enfermedades cardiovasculares pueden tomar varias formas, incluyendo, por ejemplo, hipertensión (conocida también como presión sanguínea elevada), enfermedad coronaria del corazón, choque y enfermedad reumática del corazón. Las enfermedades vasculares periféricas se refieren a enfermedades sobre cualquiera de los vasos sanguíneos fuera del corazón. Se trata comúnmente de una disminución del diámetro de los vasos sanguíneos que llevan sangre a los músculos de las piernas y de los brazos.

El término "arteriosclerosis" abarca enfermedades y afecciones vasculares que son reconocidas y comprendidas por los médicos que practican en los campos relevantes de la medicina. La enfermedad arteriosclerótica cardiovascular, la enfermedad coronaria del corazón (también conocida como la enfermedad de la arteria coronaria o la enfermedad isquémica del corazón), la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad de los vasos periféricos son todas manifestaciones clínicas de la arteriosclerosis y están entonces abarcadas por los términos "arteriosclerosis" y "enfermedad arteriosclerótica".

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

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

El término "modular" se refiere a tratar, prevenir, suprimir, mejorar o inducir una función o una condición. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden modular la hiperlipidemia disminuyendo el colesterol en un humano, suprimiendo así la hiperlipidemia.

El término "tratar" significa un manejo y un cuidado de un sujeto humano con el propósito de combatir la enfermedad, la condición o la afección, e incluye la administración de un compuesto de la presente invención para evitar el inicio de los síntomas o de las complicaciones, aliviar los síntomas o las complicaciones, o eliminar la enfermedad, la condición o la afección.

El término "colesterol" se refiere a un alcohol esteroideal que es un componente esencial de las membranas celulares y de las vainas de mielina y, como se lo usa en la presente documentación, incorpora su uso común. El colesterol sirve también como precursor para hormonas esteroideas y para ácidos biliares.

El término "triglicéridos" ("TG"), como se lo usa en la presente documentación, incorpora su uso común. Los TG consisten en tres moléculas de ácidos grasos esterificadas a un glicerol y sirven para almacenar ácidos grasos que se usan en las

células musculares para la producción de energía, o son asimiladas y almacenadas en el tejido adiposo.

Como el colesterol y los TG son insolubles en agua, deben ser empaquetados en complejos moleculares especiales conocidos como "lipoproteínas" con el fin de ser transportados en el plasma. Las lipoproteínas pueden acumularse en el plasma debido a una sobreproducción y/o a una remoción deficiente. Existen al menos cinco lipoproteínas distintas que difieren en tamaño, en composición, en densidad y en función. En las células de la pared del intestino, los lípidos de la dieta se empaquetan en grandes complejos de lipoproteínas conocidos como "quilomicrones", que tienen un alto contenido de TG y un bajo contenido de colesterol. En el hígado, los TG y los ésteres de colesterol se empaquetan y se liberan en el plasma como lipoproteínas ricas en TG conocidas como lipoproteínas de muy baja densidad ("VLDL"), cuya función primaria es el transporte endógeno de los TG hechos en el hígado o liberados por el tejido adiposo. A través de la acción enzimática, las VLDL pueden ser reducidas y asimiladas por el hígado o pueden ser transformadas en lipoproteínas de densidad intermedia ("IDL"). Las IDL, a su vez, son tomadas por el hígado o son modificadas adicionalmente para formar las lipoproteínas de baja densidad ("LDL"). Las LDL son tomadas y degradadas por el hígado, o son tomadas por el tejido extrahepático. Las lipoproteínas de alta densidad ("HDL") ayudan a retirar el colesterol de los tejidos periféricos en un proceso conocido como transporte inverso de colesterol.

El término "dislipidemia" se refiere a niveles anormales de lipoproteínas en el plasma sanguíneo, incluyendo niveles deprimidos y/o elevados de lipoproteínas (por ejemplo, niveles elevados de LDL, VLDL y niveles deprimidos de HDL).

Las Hiperlipidemias Primarias ejemplares, incluyen, sin limitaciones, las siguientes:

- (1) Hiperquilomicronemia familiar, una rara afección genética que causa una deficiencia en una enzima, LP lipasa, que degrada las moléculas de grasa. La deficiencia en la LP lipasa puede causar la acumulación de grandes cantidades de lipoproteínas en la sangre;
- (2) Hipercolesterolemia familiar, una afección genética relativamente común causada cuando el defecto subyacente es una serie de mutaciones en el gen del receptor de

LDL que resulta en receptores de LDL de funcionamiento incorrecto y/o en la ausencia de receptores de LDL. Esto conlleva a una limpieza efectiva del LDL por parte de los receptores de LDL, lo que resulta en niveles elevados de LDL y de colesterol total en el plasma;

- (3) Hiperlipidemia familiar combinada, también conocida como hiperlipidemia de múltiples tipos de lipoproteínas, una afección hereditaria en la cual los pacientes y sus parientes de primer grado afectados pueden manifestar en varias ocasiones alto colesterol y altos triglicéridos. Los niveles de HDL colesterol están comúnmente moderadamente disminuidos;
- (4) La Apolipoproteína B-100 defectuosa familiar es una anomalía genética autosómica dominante relativamente común. El defecto es causado por la mutación de un único nucleótido que produce una sustitución de una glutamina por una arginina, lo que puede causar una afinidad reducida de las partículas de LDL por el receptor de LDL. Consecuentemente, esto puede causar una LDL elevado en plasma y niveles totales de colesterol elevados;
- (5) La Disbetalipoproteinemia familiar, también conocida como hiperlipoproteinemia familiar tipo III, es una afección hereditaria poco común que resulta en elevaciones moderadas a severas de los niveles de TG y de colesterol en suero con una función anormal de la apolipoproteína E; y
- (6) La Hipertrigliceridemia familiar, una afección hereditaria común en la cual se eleva la concentración de VLDL en plasma. Esto puede causar niveles leve a moderadamente elevados de triglicéridos (y, comúnmente, no de colesterol), y puede asociarse comúnmente con bajos niveles de LDL en plasma.

Los factores de riesgo en las Hiperlipidemias Secundarias ejemplares incluyen, sin limitaciones, los siguientes: (1) factores de riesgo de enfermedades, tales como un historial de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, síndrome de Cushing, hipotiroidismo y algunos tipos de falla renal; (2) factores de riesgo de drogas, los cuales incluyen píldoras de control de la natalidad, hormonas tales como el estrógeno y los corticosteroides, algunos diuréticos y varios bloqueadores β ; (3) factores de riesgo dietario, que incluyen una ingesta dietaria de grasa por calorías totales mayor del 40%,

ingesta de grasas saturadas por calorías totales mayor del 10%, ingesta de colesterol mayor de 300 mg por día, uso habitual y excesivo del alcohol, y obesidad.

Los términos "obeso" y "obesidad" se refieren, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, a un Índice de Masa Corporal (BMI) mayor de 27,8 kg/m² para los hombres y de 27,3 kg/m² para las mujeres (BMI es peso (kg)/altura (m²)). La obesidad se relaciona con una variedad de condiciones médicas, incluyendo diabetes e hiperlipidemia. La obesidad es también un conocido factor de riesgo para el desarrollo de la diabetes tipo 2 (véanse, por ejemplo, Barret – Conner, E, *Epidemiol Rev* (1989) 11: 172-181; y Knowler et al, *Am J Clin Nutr* (1991) 53: 1543-1551).

"Sales aceptables para el uso farmacéutico" se refiere a las sales no tóxicas de metales alcalinos, de metales alcalinos térreos y de amonio de uso común en la industria farmacéutica, incluyendo sales de sodio, de potasio, de litio, de calcio, de magnesio, de bario, de amonio y de protamina cinc, las cuales se preparan por métodos bien conocidos en la técnica. El término incluye también sales no tóxicas de adición, las cuales se preparan generalmente haciendo reaccionar los compuestos de la presente invención con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Las sales representativas incluyen, sin limitaciones, clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, bisulfatos, acetatos, oxalatos, valeratos, oleatos, lauratos, boratos, benzoatos, lactatos, fosfatos, tosilatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, tartratos, napsilatos y semejantes.

"Sal de adición ácida aceptable para el uso farmacéutico" se refiere a aquellas sales que retienen la efectividad biológica y las propiedades de las bases libres, y que no resultan indeseables desde el punto de vista biológico o en cualquier otro aspecto. Pueden estar formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y semejantes, y con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido p – toluensulfónico, ácido salicílico y semejantes. Para una descripción de las sales de adición ácida aceptables

para el uso farmacéutico como prodrogas, véase, por ejemplo, Bundgaard, H, editor, *Design of Prodrugs* (Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985).

"Éster aceptable para el uso farmacéutico" se refiere a aquellos ésteres que retienen, luego de la hidrólisis de la unión éster, la afectividad biológica y las propiedades del ácido carboxílico o del alcohol, y que no resultan indeseables desde el punto de vista biológico o en cualquier otro aspecto. Para una descripción de los ésteres aceptables para el uso farmacéutico como prodrogas, véase, por ejemplo, Bundgaard, H, *supra*. Estos ésteres están típicamente formados por el correspondiente ácido carboxílico y por un alcohol. Generalmente, la formación de ésteres puede lograrse por medio de técnicas convencionales de síntesis. (véanse, por ejemplo, March et al, *Advanced Organic Chemistry*, 3ª Edición, página 1157 (John Wiley & Sons, Nueva York, 1985) y las referencias allí citadas, y Mark et al, *Encyclopedia of Chemical Technology*, (1980), John Wiley & Sons, Nueva York). El componente alcohólico del éster comprenderá generalmente: (1) una alcohol C_2-C_{12} alifático que pueda o no contener uno o más dobles enlaces, y que pueda o no contener carbonos ramificados, o (2) alcoholes C_7-C_{12} aromáticos o heteroaromáticos. La presente invención contempla también el uso de aquellas composiciones que son ésteres como los que se describen en la presente documentación y, al mismo tiempo, son las sales de adición ácida de los mismos aceptables para el uso farmacéutico.

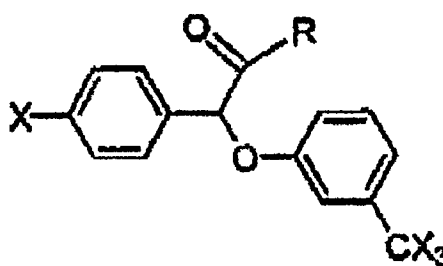
"Amida aceptable para el uso farmacéutico" se refiere a aquellas amidas que retienen, luego de la hidrólisis de la unión amida, la afectividad y las propiedades del ácido carboxílico o de la amina, y que no resultan indeseables desde el punto de vista biológico o en cualquier otro aspecto. Para una descripción de las amidas aceptables para el uso farmacéutico como prodrogas, véase, por ejemplo, Bundgaard, H, *supra*. Estas amidas están típicamente formadas por el ácido carboxílico correspondiente y por una amina. Generalmente, la formación de amidas puede lograrse por medio de técnicas convencionales de síntesis. Véase, por ejemplo, March et al, *Advanced Organic Chemistry*, 3ª Edición, página 1157 (John Wiley & Sons, Nueva York, 1985), y Mark et al, *Encyclopedia of Chemical Technology* (John Wiley & Sons, Nueva York, 1980). La presente invención contempla también el uso de aquellos compuestos que son amidas como las que se describen en la presente documentación y, al mismo

tiempo, son las sales de adición ácida de los mismos aceptables para el uso farmacéutico.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

(1) General

La presente invención se dirige al uso de derivados preferidos de ácido (-) (3-trihalometoxi) (4- halofenil) acético que tienen la siguiente fórmula general:

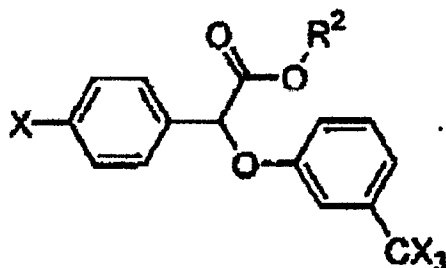


Fórmula I

En la fórmula I, R es un grupo funcional que incluye, sin limitaciones, a los siguientes: hidroxilo, aralcoxilo inferior, por ejemplo, fenilo - alcoxilo inferior tal como benciloxilo, feniloxilo, di - alquilamino inferior - alcoxilo inferior y las sales de adición ácida no tóxicas aceptables para el uso farmacéutico del mismo, por ejemplo, dimetilaminoetoxilo, clorhidrato de dietilaminoetoxilo, citrato de dietilaminoetoxilo, dieatilaminopropoxilo, alcanamido inferior alcoxilo inferior, por ejemplo, formamidoetoxilo, acetamidoetoxilo o acetamidopropoxilo, benzamido - alcoxilo inferior, por ejemplo, benzamidoetoxilo o benzamidopropoxilo, ureido - alcoxilo inferior, por ejemplo, ureidoetoxilo o 1- metil -2- ureidoetoxilo, N' - alquilo inferior - ureido - alcoxilo inferior, es decir, $R^1NH-CONH-C_nH_{2n}-O-$, donde R1 representa un alquilo inferior y n es un número entero que tiene un valor de 1 a alrededor de 5, por ejemplo, N' - etil - ureidopropoxilo, carbamilo - alcoxilo inferior, por ejemplo, carbamilmetoxilo o carbamiletoxilo, alcoxilo inferior sustituido con halofenoxilo, por ejemplo, 2- (4-clorofenoxi) etoxilo o 2- (4- clorofenoxi) -2- metilpropoxilo, fenoxilo sustituido con carbamilo, por ejemplo, 2- carbamilfenoxilo, carbonilo - alquilamino inferior y las sales de adición de aminas aceptables para el uso farmacéutico del mismo, por ejemplo, la sal de carboxietilamino de ciclohexilamina o de carboxietilamina, N, N - di - alquilamino inferior y las sales de solución ácida aceptables para el uso farmacéutico del mismo, por ejemplo, citrato de N, N - dietilaminoetilamino o citrato de N, N -

diatilaminopropilamino, alquilamino inferior sustituido con halógeno, por ejemplo, 2-cloroetilamino o 4-clorobutilamino, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, por ejemplo, 2-hidroxietilamino o 3-hidroxipropilamino, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxilo inferior, por ejemplo, acetoxietilamino o acetoxipropilamino, ureido, alcóxicarbonilamino inferior, por ejemplo, metóxicarbonilamino (es decir, -NHCOOCH_3) o etilóxicarbonilamino (es decir, $\text{CHCOOC}_2\text{H}_5$). En una realización preferida, R se selecciona de manera que es una porción hidrolizable, tal como un éster o una amida, y, luego de la hidrólisis de la unión éster o amida, el compuesto es biológicamente activo como ésteres, amidas o prodrogas aceptables para el uso farmacéutico. X, en la fórmula I, es un halógeno, por ejemplo, cloro, bromo, flúor o iodo.

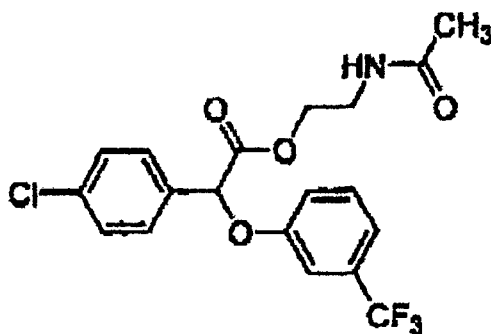
En una realización preferible, la presente invención se relaciona con el uso de los derivados de ácido (-) (3-trihalometoxi) (4-halofenil) acético que tienen la siguiente fórmula general:



(II)

En la Fórmula II, R² es un grupo funcional que incluye, sin limitaciones, los siguientes: hidrógeno, fenilo - alquilo inferior, por ejemplo, bencilo, alcanamido inferior - alquilo inferior, por ejemplo, acetamidoetilo, o benzamido - alquilo inferior, por ejemplo, benzamidoetilo. X, en la fórmula II, es un halógeno, por ejemplo, cloro, bromo, flúor o iodo.

En una realización más preferida, la presente invención se relaciona con el uso de un compuesto que tiene la fórmula:



Fórmula III

El compuesto de la Fórmula III se conoce como "(-) acetato de 2- acetamidoetil (4- clorofenil) (3- triflorometilfenoxilo)" o "halofenato (-)" (también denominado "halofenato (-)").

Los cambios en el metabolismo de las drogas mediados por la inhibición de las enzimas del citocromo P450 tiene un potencial muy elevado de precipitar efectos adversos significativos en pacientes. Tales efectos fueron notados previamente en pacientes tratados con halofenato racémico. En los presentes estudios, se halló que el ácido halofénico racémico inhibía el citocromo P450 2C9, una enzima de la que se conoce que tiene una función importante en el metabolismo de drogas específicas. Esto puede conducir a problemas significativos con las interacciones entre las drogas y los anticoagulantes, los agentes inflamatorios y otras drogas metabolizadas por esta enzima. Sin embargo, bastante sorprendentemente, se observó una diferencia sustancial entre los enantiómeros del ácido halofénico respecto de su capacidad de inhibir el citocromo P450 2C9, siendo el enantiómero (-) alrededor de veinte veces menos activos, mientras que el enantiómero (+) era bastante más potente (véase el Ejemplo 7). Así, el uso del enantiómero (-) de los compuestos en la Fórmula I, la Fórmula II o la Fórmula III evitará la inhibición de esta enzima y el efecto adverso sobre el metabolismo de drogas previamente observado con el halofenato racémico.

La presente invención abarca un método para modular la resistencia a la insulina en un mamífero, método que comprende: administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que tiene la estructura general de la Fórmula I, o una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico. En una realización presentemente preferida, el compuesto tiene la estructura general de la Fórmula II. En otra realización preferida, el compuesto tiene la estructura de la Fórmula III. Bastante

sorprendentemente, el método evita los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato brindando una cantidad del estereoisómero (-) de los compuestos en la Fórmula I, la Fórmula II o la Fórmula III que resulta insuficiente como para causar los efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

La presente invención abarca también un método para modular la diabetes tipo 2 en un mamífero, método que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que tiene la estructura general de la Fórmula I, o una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico. En una realización presentemente preferida, el compuesto tiene la estructura general de la Fórmula II. En otra realización preferida, el compuesto tiene la estructura de la Fórmula III. Bastante sorprendentemente, el método evita los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato brindando una cantidad del estereoisómero (-) de los compuestos en la Fórmula I, la Fórmula II o la Fórmula III que resulta insuficiente como para causar los efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

La presente invención abarca también un método para modular la hiperlipidemia en un mamífero, método que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto que tiene la estructura general de la Fórmula I, o una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico. En una realización presentemente preferida, el compuesto tiene la estructura general de la Fórmula II. En otra realización preferida, el compuesto tiene la estructura de la Fórmula III. Bastante sorprendentemente, el método evita los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato brindando una cantidad del estereoisómero (-) de los compuestos en la Fórmula I, la Fórmula II o la Fórmula III que resulta insuficiente como para causar los efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

La mezcla racémica del halofenato (es decir, una mezcla racémica 1 a 1 de los dos enantiómeros) posee actividad antihiperlipidémica y provee una terapia y una reducción de la hiperglucemia relacionada con la diabetes cuando se la combina con algunas otras drogas usadas comúnmente para tratar esta enfermedad. Sin embargo,

esta mezcla racémica, si bien ofrece la expectación de eficacia, causa efectos adversos. El término "efectos adversos" incluye, sin limitaciones, náuseas, úlceras gastrointestinales y sangrado gastrointestinal. Otros efectos laterales que se han reportado con el halofenato racémico incluyen problemas potenciales con las interacciones entre drogas, incluyendo especialmente dificultades para controlar la anticoagulación con CoumadinTM. El uso de los compuestos de la presente invención sustancialmente puros resulta en definiciones o eficacia más clara relacionada con la dosis, efectos adversos reducidos y, de acuerdo con esto, en un índice terapéutico mejorado. En consecuencia, se ha descubierto recientemente que resulta más deseable y ventajoso administrar el enantiómero (-) del halofenato en lugar de la mezcla racémica de halofenato.

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

Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada. Al describir un compuesto ópticamente activo, se usan los prefijos R y S para denotar la configuración absoluta de la molécula respecto de sus centros quirales. Los prefijos "d" y "l", o (+) y (-) se usan para designar el signo de rotación de la luz polarizada por parte del compuesto, significando (-) o l que el compuesto es "levorrotatorio", y representando (+) o d que el compuesto es "dextrorrotatorio". No existe correlación alguna entre la nomenclatura para la stereoquímica absoluta y para la rotación de un enantiómero. Para una estructura química dada, estos compuestos, denominados "estereoisómeros", son idénticos excepto por el hecho de que son imágenes especulares uno del otro. Puede denominarse un estereoisómero específico como "enantiómero", y una mezcla de tales isómeros se denomina comúnmente mezcla "enantiomérica" o "racémica". Véase, por ejemplo, Streitweiser, A y Heathcock, C H, INTRODUCTION TO ORGANIC CHEMISTRY, 2ª Edición, Capítulo 7 (MacMillan Publishing Co, EEUU, 1981).

La síntesis farmacéutica de la mezcla racémica de derivados de ácido (-) (3-trihalometoxi) (4- halofenil) acético puede llevarse a cabo por medio de los métodos descritos en la Patente de los EEUU N° 3517050, cuyas enseñanzas se incorporan a modo de referencia en la presente documentación. La síntesis de los compuestos de la presente invención se describe adicionalmente en los Ejemplos a continuación. Los

enantiómeros individuales pueden obtenerse por medio de la resolución de la mezcla racémica de enantiómeros usando medios convencionales conocidos y usados por aquellos entrenados en la técnica. Véase, por ejemplo, Jaques, J et al, en ENANTIOMERS, RACEMATES AND RESOLUTIONS, John Wiley & Sons, Nueva York (1981). Pueden usarse también otros métodos comunes de resolución conocidos para aquellos entrenados en la técnica, incluyendo, sin limitaciones, cristalización simple y resolución cromatográfica (véanse, por ejemplo, STEREOCHEMISTRY OF CARBON COMPOUNDS (1962), E L Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, J Chromatography (1975) 113, 283-302). Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, es decir, los isómeros ópticamente puros, pueden prepararse a partir de la mezcla racémica mediante una resolución enzimática biocatalítica. La resolución enzimática biocatalítica ha sido descrita con anterioridad (véanse, por ejemplo, las Patentes de los EEUU N° 5057427 y 5077217, cuyas descripciones se incorporan a modo de referencia en la presente documentación). Otros métodos para obtener enantiómeros incluyen la síntesis estereoespecífica (véase, por ejemplo, Li, A J et al, Pharm Sci (1997) 86: 1073-1077).

El término "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)", como se lo usa en la presente documentación, significa que las composiciones contienen una proporción sustancialmente mayor del isómero (-) del halofenato en relación con el isómero (+). En una realización preferida, el término "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)", como se lo usa en la presente documentación, significa que la composición tiene al menos un 90% en peso del isómero (-) y un 10% en peso o menos del isómero (+). En una realización más preferida, el término "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)", como se lo usa en la presente documentación, significa que la composición tiene al menos un 99% en peso del isómero (-) y un 1% en peso o menos del isómero (+). En la realización más preferida, el término "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)", como se lo usa en la presente documentación, significa que la composición contiene más del 99% en peso del isómero (-). Estos porcentajes se basan en la cantidad total de halofenato en la composición. Los términos "isómero (I) de halofenato ópticamente puro en forma sustancial", "halofenato (I) ópticamente puro en forma sustancial", "isómero (I) de halofenato ópticamente puro" y "halofenato (I) ópticamente

puro" se refieren todos al isómero (-) y están abarcados por las cantidades anteriormente descritas. Además, los términos "isómero (d) de halofenato ópticamente puro en forma sustancial", "halofenato (d) ópticamente puro en forma sustancial", "isómero (d) de halofenato ópticamente puro" y "halofenato (d) ópticamente puro" se refieren todos al isómero (-) y están abarcados por las cantidades anteriormente descritas.

El término "exceso enantiomérico" o "ee" se relaciona con el término "pureza óptica" en el hecho de que ambos son mediadas del mismo fenómeno. El valor de ee será un número de 0 a 100, siendo 0 una mezcla racémica y siendo 100 un enantiómero único puro. Un compuesto del que se indica que es 98% ópticamente puro puede describirse como 96% ee.

(3) Terapia de Combinación con Agentes Activos Adicionales

Las composiciones pueden formularse y administrarse de la misma manera que se indica a continuación. "Formulación" se define como una preparación farmacéutica que contiene una mezcla de varios excipientes e ingredientes clave que proveen una forma relativamente estable, deseable y útil de un compuesto o de una droga. Para la presente invención, "formulación" se incluye dentro del significado del término "composición". Los compuestos de la presente invención pueden usarse efectivamente solos o en combinación con uno o más agentes activos adicionales dependiendo de la terapia deseada sobre el blanco (véanse, por ejemplo, Turner, N et al, Prog Drug Res (1998) 51: 33-94, Haffner, S Diabetes Care (1998) 21: 160-178. Y DeFonzo, R et al (editores) Diabetes Reviews (1997) Column 5 N° 4). Varios estudios han investigado los beneficios de las terapias de combinación con agentes orales (véanse, por ejemplo, Mahler, R, J Clin Endocrinol Metab (1999) 84: 1165-71; Grupo de Estudio Prospectivo de la Diabetes del Reino Unido: UKPDS 28, Diabetes Care (1998) 21: 87-92; Bardin, C W (editor) CURRENT THERAPY IN ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM, 6ª Edición (Mosby - Year BOOK, Inc, St Louis, MO, 1997); Chiasson, J et al, Ann Intern Med (1994) 121: 928-935; Coniff, R et al, Clin Ther (1997) 19: 16-26; Coniff, R et al, Am J Med (1995) 98: 443-451; e Iwamoto, Y et al, Diabet Med (1996) 13: 365-370; Kwiterovich, P, Am J Cardiol (1998) 82(12A): 3U-17U). Estos estudios indican que puede mejorarse aún más la modulación de la diabetes y de la hiperlipidemia mediante

el agregado de un segundo agente para el régimen terapéutico. La Terapia de combinación incluye la administración de una única formulación de dosificación farmacéutica que contiene un compuesto que tiene la estructura general de la Fórmula I (o de la Fórmula II o de la Fórmula III) y uno o más agentes activos adicionales, así como la administración de un compuesto de Fórmula I (o de Fórmula II o de Fórmula III) y de cada agente activo en su propia formulación de dosificación farmacéutica por separado. Por ejemplo, pueden administrarse un compuesto de Fórmula I y un inhibidor de la HMG – CoA reductasa al sujeto humano juntos en una única composición de dosificación oral, tal como una tableta o una cápsula, o puede administrarse cada agente en formulaciones separadas de dosificación oral. Cuando se usan formulaciones de dosificación separadas, pueden administrarse un compuesto de Fórmula I y uno o más agentes activos adicionales esencialmente al mismo tipo (es decir, concurrentemente) o en momentos separados y pero seguidos (es decir, secuencialmente). Se entiende que la terapia de combinación incluye todos estos regímenes.

Un ejemplo es una terapia de combinación que modula (previene el inicio de los síntomas o de las complicaciones asociadas) la arteriosclerosis, en la cual se administra un compuesto de Fórmula I en combinación con uno o más de los siguientes agentes activos: un agente antihiperlipidémico, un agente que incrementa la HDL en plasma, un agente antihipercolesterolémico, tal como un inhibidor de la biosíntesis del colesterol, por ejemplo, un inhibidor de la hidroximetilglutaril (HMG) CoA reductasa (también conocidos como estatinas, ejemplo de las cuales son la lovastatina, la simvastatina, la pravastatina, la fluvastatina y la atorvastatina), un inhibidor de la HMG – CoA sintetasa, un inhibidor de la escualeno epoxidasa, o un inhibidor de la escualeno sintasa (también conocido como un inhibidor de la escualeno sintetasa), un inhibidor de la acil – coenzima A colesterol aciltransferasa (ACAT), tal como la melinamida, probucol, ácido nicotínico y las sales del mismo con niacinamida, un inhibidor de la absorción del colesterol, tal como el β - sitosterol, una resina de intercambio aniónico capturadora de ácidos biliares, tal como la colestiramina, el colestipol o los derivados de doalquilaminoalquilo de un dextrano entrecruzado, un inductor de los receptores de LDL (lipoproteína de baja densidad), fibratos tales como el clofibrato, el bezafibrato, el

fenofibrato y el gemfibrozil, vitamina B₆ (también conocida como piridoxina) y las sales de la misma aceptables para el uso farmacéutico, tal como la sal de HCl, vitamina B₁₂ (también conocida como cianocobalamina), vitamina B₃ (también conocida como ácido nicotínico y niacinamida, mencionada anteriormente), vitaminas antioxidantes, tales como las vitaminas C y E, y los beta carotenos, un beta – bloqueador, un antagonista de la angiotensina II, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, un inhibidor de la agregación de plaquetas, tal como los antagonistas del receptor de fibrinógeno (es decir, las glicoproteínas IIb/IIIa antagonistas del receptor de fibrinógeno) y aspirina. Como se indicó con anterioridad, los compuestos de Fórmula I pueden administrarse en combinación con más de un agente activo adicional, por ejemplo, con una combinación de un compuesto de fórmula I con un inhibidor de la HMG – CoA reductasa (por ejemplo, lovastatina, simvastatina y pravastatina) y con aspirina, o de un compuesto de Fórmula I con un inhibidor de la HMG – CoA reductasa y con un β bloqueador.

Otro ejemplo de terapia de combinación puede verse en el tratamiento de la obesidad o de las afecciones relacionadas con la obesidad, en el cual los compuestos de Fórmula I pueden usarse efectivamente en combinación con, por ejemplo, fenilpropanolamina, fentermina, dietilpropion, mazindol, fenfluramina, dexfenfluramina, fentiramina, agentes agonistas del adrenorreceptor β_3 , sibutramina, inhibidores de la lipasa gastrointestinal (tales como arlisat) y leptinas. Otros agentes utilizados en el tratamiento de la obesidad o de las afecciones relacionadas con la obesidad en los cuales los compuestos de Fórmula I pueden ser usados efectivamente en combinación con, por ejemplo, neuropéptido Y, enterostatina, colecitoquinina, bombesina, amilina, receptores de histamina H₃, receptores de dopamina D₂, hormona estimuladora de los melanocitos, factor liberador de corticotrofinas, galanina y ácido gama aminobutírico (GABA).

Aún otro ejemplo de terapia de combinación puede verse en la modulación de la diabetes (o en el tratamiento de la diabetes y de sus síntomas, complicaciones y afecciones relacionadas), donde los compuestos de Fórmula I pueden usarse efectivamente en combinación con, por ejemplo, sulfonilureas (tales como clorpropamida, tolbutamida, acetohexamida, tolzamida, gliburida, gliclazida, glinasa,

glimepirida y glipizida), biguanidas (tales como la metformina), tiazolidindionas (tales como ciglitazona, pioglitazona, troglitazona y rosiglitazona), deshidroepiandrosterona (también denominada DHEA, o su éster de sulfato conjugado, DHEA-SO₄), antiglucocorticoides, inhibidores del TNF α , inhibidores de la α - glucosidasa (tales como acarbosa, miglitol y voglibosa), pramlintida (un análogo sintético de la hormona humana amilina), otros estimuladores de la secreción de insulina (tales como la repaglinida, la gliquidona y la netaglinida), insulina, así como los agentes activos descritos previamente para el tratamiento de la arteriosclerosis.

Otro ejemplo de terapia de combinación puede observarse en la modulación de la hiperlipidemia (el tratamiento de la hiperlipidemia y de las complicaciones relacionadas), donde los compuestos de Fórmula I pueden usarse efectivamente en combinación con, por ejemplo, estatinas (tales como la fluvastatina, la lovastatina, la pravastatina o la simvastatina), resinas que unen ácidos grasos (tales como colestipol o colestiramina), ácido nicotínico, probucol, beta carotenos, vitamina E o vitamina C.

De acuerdo con la presente invención, puede usarse una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula I (o de Fórmula II o de Fórmula III) para la preparación de una composición farmacéutica útil para tratar la diabetes, para tratar la hiperlipidemia, para tratar la obesidad, para disminuir los niveles de triglicéridos, para disminuir los niveles de colesterol, para aumentar el nivel en plasma de la lipoproteína de alta densidad y para tratar, prevenir o reducir el riesgo de desarrollar arteriosclerosis.

Adicionalmente, pueden usarse juntas una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula I (o de Fórmula II o de Fórmula III) y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más agentes activos seleccionados del grupo que consiste en: un agente antihiperlipidémico, un agente que incrementa la HDL en plasma, un agente antihipercolesterolémico, tal como un inhibidor de la biosíntesis del colesterol, por ejemplo, un inhibidor de la HMG CoA reductasa, un inhibidor de la HMG - CoA sintetasa, un inhibidor de la escualeno epoxidasa, o un inhibidor de la escualeno sintasa (también conocido como un inhibidor de la escualeno sintetasa), un inhibidor de la acil - coenzima A colesterol aciltransferasa, probucol, ácido nicotínico y las sales del mismo con niacinamida, un inhibidor de la absorción del colesterol, una resina de

intercambio aniónico captadora de ácidos biliares, un inductor de los receptores de lipoproteína de baja densidad, clofibrato, fenofibrato y gemfibrozil, vitamina B₆ y las sales de la misma aceptables para el uso farmacéutico, vitamina B₁₂, una vitamina antioxidante, un beta – bloqueador, un antagonista de la angiotensina II, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, un inhibidor de la agregación de plaquetas, tal como los antagonistas del receptor de fibrinógeno, aspirina, fentiraminas, agentes agonistas del receptor adrenérgico β_3 , sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la α - glucosidasa, otros estimuladores de la secreción de insulina e insulina, para la preparación de una composición farmacéutica útil en los tratamientos descritos con anterioridad.

(4) Formulaciones Farmacéuticas y Métodos de Administración

En los métodos de la presente invención, los compuestos de Fórmula I, de Fórmula II y de Fórmula III pueden entregarse o administrarse a un mamífero, por ejemplo, a un paciente o a un sujeto humano, solos, bajo la forma de una sal aceptable para el uso farmacéutico o de un precursor hidrolizable de la misma, o bajo la forma de una composición farmacéutica en la cual se mezcla el compuesto con vehículos o excipientes adecuados en una cantidad terapéuticamente efectiva. Por una "dosis terapéuticamente efectiva", una "cantidad terapéuticamente efectiva" o, intercambiabilmente, una "dosis aceptable para el uso farmacológico" o una "cantidad aceptable para el uso farmacológico" se indica que habrá presente una cantidad suficiente de un compuesto de la presente invención, alternativamente, de una combinación de, por ejemplo, un compuesto de la presente invención, que está sustancialmente libre de su estereoisómero (+), y un vehículo aceptable para el uso farmacéutico, de manera de lograr un resultado deseado, por ejemplo, aliviar un síntoma o una complicación de la diabetes tipo 2.

Los compuestos de Fórmula I, de Fórmula II y de Fórmula III que se usan en los métodos de la presente invención pueden incorporarse en una variedad de formulaciones para su administración terapéutica. Más particularmente, los compuestos de Fórmula I (o de Fórmula II o de Fórmula III) pueden formularse en vehículos o diluyentes aceptables para el uso farmacéutico, y pueden formularse en preparaciones en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas, tales como tabletas, cápsulas,

píldoras, polvos, gránulos, grageas, geles, jarabes, ungüentos, soluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes y aerosoles. Como tales, la administración de los compuestos puede lograrse de varias maneras, incluyendo formas de administración oral, bucal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica e intratraqueal. Aún más, el compuesto puede administrarse de una manera local en vez de sistémica, en una formulación de depósito o de liberación sostenida. Además, los compuestos pueden administrarse en un liposoma.

Además, los compuestos de Fórmula I, de Fórmula II y de Fórmula III pueden formularse con excipientes, diluyentes o vehículos comunes, y comprimirse en tabletas, formularse como elixires o soluciones para una administración oral conveniente, o administrarse por vías intramusculares o intravenosas. Los compuestos pueden administrarse por vía transdérmica y pueden formularse como formas de dosificación de liberación sostenida y semejantes.

Los compuestos de Fórmula I, de Fórmula II y de Fórmula III pueden administrarse solos, en combinación entre sí, o pueden usarse en combinación con otros compuestos conocidos (descriptos previamente). En las formas de dosificación farmacéutica, los compuestos pueden administrarse bajo la forma de sus sales aceptables para el uso farmacéutico. Pueden contener porciones hidrolizables. Pueden usarse también solos o en asociación apropiada, así como en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos.

Las formulaciones adecuadas para su uso en la presente invención pueden hallarse en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company (1985) Filadelfia, PA 17ª Edición), que se incorpora a modo de referencia en la presente documentación. Aún más, para una breve revisión de los métodos de administración de drogas, véase, por ejemplo, Langer, Science (1990) 249: 1527-1533, que se incorpora a modo de referencia en la presente documentación. Las composiciones farmacéuticas que se describen en la presente documentación pueden fabricarse de una manera conocida para aquellos entrenados en la técnica, es decir, por medio de procesos comunes de mezcla, disolución, granulación, creación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulamiento, entrapamiento o liofilización. Los siguientes

métodos y excipientes son meramente ejemplares y no pretenden ser limitantes en modo alguno.

Para su inyección, los compuestos pueden formularse en preparaciones disolviendo, suspendiendo o emulsificándolos en un solvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, en glicéridos sintéticos de ácidos alifáticos, en ésteres de ácidos alifáticos superiores o de propilen glicol, y, si se lo desea, con aditivos convencionales tales como solubilizadores, agentes isotónicos, agentes suspensores, agentes emulsificadores, estabilizadores y preservadores. Preferiblemente, los compuestos de la presente invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferiblemente en buffers fisiológicamente compatibles tales como la solución de Hanks, la solución de Ringer o el buffer de solución salina fisiológica. Para su administración transmucosa, se usan en la formulación penetradores apropiados para la barrera a permear. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

Para su administración oral, los compuestos de Fórmula I, de Fórmula II y de Fórmula III pueden formularse fácilmente combinándolos con vehículos aceptables para el uso farmacéutico que son bien conocidos en la técnica. Tales vehículos posibilitan que los compuestos se formulen como tabletas, píldoras, grageas, cápsulas, emulsiones, suspensiones lipofílicas e hidrofílicas, líquidos, geles, jarabes, mezclas, suspensiones y semejantes, para la ingestión oral por parte de un paciente a tratar. Las composiciones farmacéuticas de uso oral pueden obtenerse mezclando los compuestos con un excipiente sólido, opcionalmente moliendo una mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos después de agregar auxiliares adecuados, si se lo desea, para obtener núcleos de tabletas o de grageas. Los excipientes adecuados son, en particular, rellenos tales como azúcares, tales como lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol, preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de papa, gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil - celulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se lo desea, pueden agregarse agentes desintegradores, tales como la polivinil pirrolidona entrecruzada, el agar o el ácido algínico, o una sal del mismo tal como el alginato de sodio.

Los núcleos de las grageas se proveen con coberturas adecuadas. Para este propósito, pueden usarse soluciones de azúcar concentrada, que pueden contener opcionalmente goma arábica, talco, polivinil pirrolidona, gel de carbopol, polietilen glicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y solventes orgánicos o mezclas de solventes adecuados. Pueden agregarse tinturas o pigmentos a las tabletas o a las coberturas de las grageas para la identificación o para caracterizar distintas combinaciones de dosis de compuestos activos.

Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse oralmente incluyen cápsulas presionables hechas de gelatina así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y de un plasticizador tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas presionables pueden contener los ingredientes activos mezclados con un relleno tal como lactosa, con agentes de unión tales como almidones y/o con lubricantes tales como talco o estearato de magnesio, y, opcionalmente, con estabilizadores. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilen glicoles líquidos. Además, pueden agregarse estabilizadores. Todas las formulaciones de administración oral deberían estar en dosificaciones adecuadas para tal administración.

Para la administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de tabletas o de pastillas formuladas de una manera convencional.

Para la administración por inhalación, los compuestos para su uso de acuerdo con la presente invención se administran convenientemente bajo la forma de una presentación en aerosol o en rocío en paquetes presurizados o en nebulizadores, con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, dicloroflorometano, tricloroflorometano, diclorofloroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado, o en inhaladores de polvo seco libres de propelentes. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse empleando una válvula para administrar una cantidad fundida. Las cápsulas y los cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o en un insuflador pueden formularse de manera que contengan una mezcla en polvo del compuesto y una base adecuada de polvo, tal como lactosa o almidón.

Los compuestos pueden formularse para su administración parenteral por inyección, por ejemplo, por inyección en bolo o mediante infusión continua. Las

formulaciones de inyección pueden presentarse en una forma de unidad de dosificación, por ejemplo, en empollas o en contenedores de dosis múltiples, con un preservador adecuado. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes formuladores tales como agentes suspensores, estabilizadores y/o dispersantes.

Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en una forma soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones de los compuestos activos pueden prepararse como suspensiones apropiadas para inyección aceitosa. Los solventes o vehículos lipofílicos adecuados incluyen ácidos grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato o triglicéridos de etilo, o liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetil celulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener estabilizadores adecuados o agentes que aumenten la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas. Como alternativa, el ingrediente activo puede tomar la forma de un polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, con agua estéril libre de pirógeno, antes de ser usado.

Los compuestos pueden formularse también en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contengan bases convencionales de supositorios tales como manteca de cacao, carboceras, polietilén glicoles u otros glicéridos, todos los cuales se funden a temperatura corporal pero permanecen sólidos a temperatura ambiente.

Además de las formulaciones descriptas previamente, los compuestos pueden también formularse como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada pueden administrarse por implantación (por ejemplo, subcutánea o intramuscularmente) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos pueden formularse con materiales poliméricos o hidrofóbicos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite adecuado), con resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal poco soluble.

Como alternativa, pueden emplearse otros sistemas de administración para las composiciones farmacéuticas hidrofóbicas. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos o transportes de administración para drogas hidrofílicas. En una realización presentemente preferida, pueden emplearse liposomas de circulación prolongada, es decir, furtivos. Tales liposomas se describen en forma general en Woodle et al, Patente de los EEUU N° 5013556, cuyas enseñanzas se incorporan a modo de referencia en la presente documentación. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse también por medio de métodos de liberación controlada y/o mediante dispositivos tales como los que se describen en las Patentes de los EEUU N° 3845770, 3916899, 3536809, 3598123 y 4008719, cuyas descripciones se incorporan a modo de referencia en la presente documentación.

Pueden emplearse también algunos solventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido (DMSO), aunque comúnmente bajo el costo de una mayor toxicidad. Adicionalmente, los compuestos pueden administrarse usando un sistema de liberación sostenida, tal como matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido varios tipos de materiales de liberación sostenida y son bien conocidos por aquellos entrenados en la técnica. Las cápsulas de liberación sostenida pueden, dependiendo de su naturaleza química, liberar los compuestos desde por unas pocas horas hasta por más de 100 días.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender también excipientes o vehículos adecuados de fase sólida o de gel. Los ejemplos de tales vehículos o excipientes incluyen pero no se limitan a carbonato de calcio, fosfato de calcio, varios azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilén glicoles.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen composiciones en las cuales los ingredientes activos están contenidos en una cantidad terapéuticamente efectiva. La cantidad de una composición administrada dependerá, por supuesto, del sujeto a tratar, del peso del sujeto, de la severidad de la afección, de la forma de administración y del juicio del médico que prescribe la composición. La determinación de una cantidad efectiva está comúnmente

dentro de la capacidad de aquellos entrenados en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada provista en la presente documentación.

Para cualquier compuesto usado en el método de la presente invención, una dosis terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo de células o sobre modelos animales.

Aún más, la toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos descriptos en la presente documentación puede determinarse por medio de procedimientos farmacéuticos comunes en cultivos celulares o en animales experimentales, por ejemplo, determinando la LD_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED_{50} (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entre el efecto tóxico y el terapéutico es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación entre la LD_{50} y la ED_{50} . Se prefieren los compuestos que muestran un mayor índice terapéutico. Los datos obtenidos a partir de estos ensayos en cultivos celulares y sobre animales pueden usarse para formular un rango de dosificación que no resulte tóxico para su uso en humanos. La dosificación de tales compuestos recae preferiblemente dentro de un rango de concentraciones circulantes que incluyen la ED_{50} con escasa o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la ruta de administración utilizada. La formulación exacta, la ruta de administración y la dosificación pueden ser elegidas por cada médico individual a la vista de la condición del paciente (véase, por ejemplo, Fingl et al, 1975 en: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Capítulo 1).

La cantidad de compuesto activo que puede combinarse con un material vehículo para producir una única forma de dosificación variará dependiendo de la enfermedad a tratar, de la especie de mamífero y del modo particular de administración. Sin embargo, como guía general, las unidades de dosificación adecuadas de los compuestos de la presente invención pueden, por ejemplo, contener preferiblemente entre 100 mg y 3000 mg del compuesto activo. Una unidad de dosificación preferida es de entre 500 mg y alrededor de 1500 mg. Una unidad de dosificación más preferida es de entre 500 mg y alrededor de 1000 mg. Tales unidades de dosificación pueden administrarse más de una vez por día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 ó 6 veces por día, pero preferiblemente 1 ó 2 veces por día, de manera que la dosis

diaria total para un adulto de 70 kg está en el rango de 0,1 a alrededor de 350 mg por kg de peso del sujeto por administración. Una dosificación preferida es de 5 a alrededor de 250 mg por kg de peso del sujeto por administración, y tal terapia puede extenderse desde una cantidad de semanas o meses, y en, algunos casos, años. Se comprenderá, sin embargo, que el nivel específico de dosificación para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del individuo a tratar, el tiempo y la ruta de administración, la tasa de excreción, otras drogas que hayan sido administradas previamente, y la severidad de la enfermedad particular a tratar, como será bien comprendido por aquellos entrenados en la técnica.

Una dosificación típica puede ser una tableta de 10 a alrededor de 1500 mg tomada una vez por día, varias veces por día o una cápsula o una tableta de liberación demorada tomada una vez por día y que contenga un contenido proporcionalmente mayor de ingrediente activo. El efecto de liberación demorada puede obtenerse por medio de materiales de cápsula que se disuelven a distintos valores de pH, por medio de cápsulas que liberan sus contenidos lentamente por presión osmótica o por cualquier otro medio conocido de liberación controlada.

Puede resultar necesario usar dosificaciones fuera de estos rangos en algunos casos, como resultará evidente para aquellos entrenados en la técnica. Además, se inicia que el médico clínico o responsable del tratamiento conocerá como y cuando interrumpir, ajustar o terminar la terapia en conjunción con la respuesta individual del paciente.

(5) Grupos Protectores

Algunos compuestos que tienen la estructura general de las Fórmulas I y II pueden requerir el uso de grupos protectores para permitir su elaboración exitosa en la estructura deseada. Los grupos protectores pueden elegirse con referencia a Greene, T W et al, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Inc, 1991. Los grupos bloqueadores son fácilmente removibles, es decir, pueden ser retirados, si se lo desea, mediante procedimientos que no causen la separación u otras interrupciones de las porciones restantes de la molécula. Tales procedimientos incluyen la hidrólisis

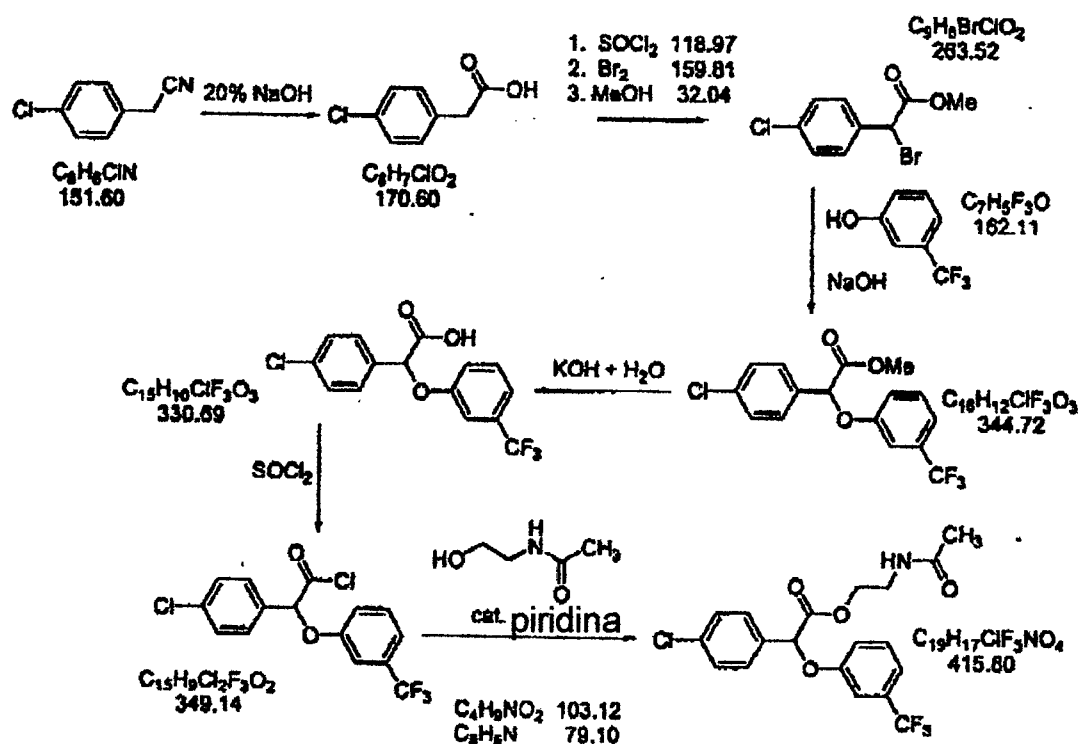
química y enzimática, el tratamiento con agentes químicos reductores u oxidantes bajo condiciones suaves, el tratamiento con ion fluoruro, el tratamiento con un catalizador de metal de transición y con un nucleófilo, y la hidrogenación catalítica.

Los ejemplos de grupos adecuados protectores de hidroxilo son: trimetilsililo, trietilsililo, o – nitrobenziloxicarbonilo, p – nitrobenziloxicarbonilo, t – butildifenilsililo, t – butildimetilsililo, benziloxicarbonilo, t – butiloxicarbonilo, 2,2,2- tricloraetoxicarbonilo y aliloxicarbonilo. Los ejemplos de grupos adecuados protectores de carboxilo son benzhidrido, o – nitrobenzilo, p – nitrobenzilo, 2- naftilmetilo, alilo, 2- cloroalilo, benzilo, 2,2,2- tricloraetilo, trimetilsililo, t – butildimetilsililo, t – butildifenilsililo, 2- (trimetilsilil) etilo, fenacilo, p – metoxibenzilo, acetonoilo, p – metoxifenilo, 4- piridinilmetilo y t - butilo.

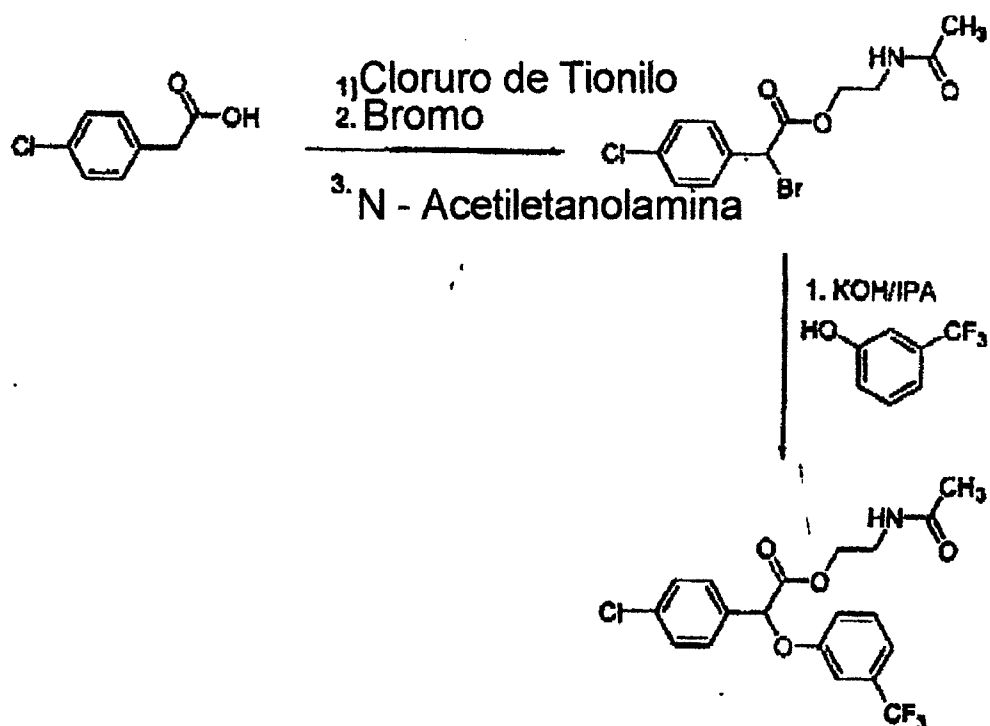
(6) Proceso

Los procesos para hacer los compuestos de la presente invención se ilustran en forma general en los Esquemas 1 y 2 (y se describen adicionalmente en los Ejemplos):

Esquema 1:



Esquema 2:



De acuerdo con el Esquema 2, se convierte un ácido fenil acético en un derivado de ácido activado (por ejemplo, en un cloruro de ácido) seguido por la halogenación del carbono alfa. La posición de ácido activado de la molécula se hace reaccionar con un nucleófilo (por ejemplo, N - acetiletanolamina) para proveer un ácido protegido. El ácido halogenado protegido se trata con un fenol sustituido (por ejemplo, 3-triflorometilfenol), lo que brinda el producto deseado.

Los estereoisómeros de los compuestos de la presente invención pueden prepararse usando en el proceso reactivos, sustratos o catalizadores en su única forma enantiomérica, siempre que esto resulte posible. Puede resolverse la mezcla de estereoisómeros por métodos convencionales, descriptos previamente y en los Ejemplos. Algunos de los métodos preferidos incluyen el uso de resolución microbiana, la resolución de sales diastereoméricas formadas con ácidos quirales o con bases quirales, y la cromatografía usando soportes quirales.

(7) Equipos

Además, la presente invención provee equipos con unidades de dosificación de los compuestos de Fórmula I, de Fórmula II o de Fórmula III en dosis orales o inyectables. Además de los contenedores que llevan las unidades de dosificación habrá un medio de información adjunto que describa el uso y los posibles beneficios de

las drogas para aliviar los síntomas y/o las complicaciones asociadas con la diabetes tipo 2 así como para aliviar la hiperlipidemia. Los compuestos y las unidades de dosificación preferidas son aquellos que se describieron anteriormente en la presente documentación.

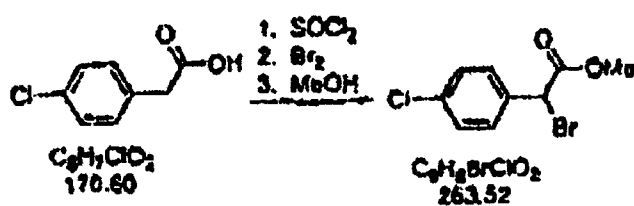
EJEMPLOS

Los compuestos de Fórmula I, de Fórmula II, o de Fórmula III de la presente invención se pueden preparar fácilmente usando el proceso estipulado en el Esquema I descripto anteriormente y a partir de los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Este Ejemplo se refiere a la preparación de Metil Bromo - (4 - clorofenil) - acetato.

El compuesto inicial enumerado en el Esquema I, es decir, ácido 4 - clorofenilacético, se obtiene fácilmente de diversas fuentes comerciales (por ejemplo, Aldrich y Fluka).

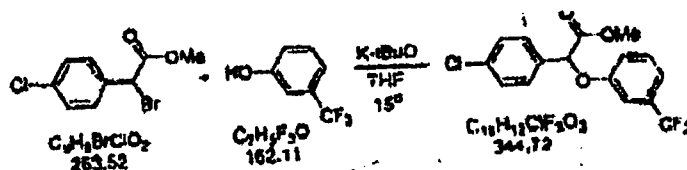


Un reactor Morton de 5 L equipado con un agitador magnético, un control de temperatura del recipiente, y un embudo de alimentación se venteoó mediante un lavador de gases, y se cargó con ácido p - clorofenilacético (720 g, 4,2 moles) y SOCl_2 (390 ml, 630 g, 5,3 moles). La reacción se agitó, calentó y mantuvo a $55^\circ \pm 5^\circ \text{C}$ durante una hora. A continuación se agregó Bromo (220 ml, 670 g, 5,3 moles) durante un período de 20 min y se agitó a $55^\circ \pm 5^\circ \text{C}$ durante 16 hs. La temperatura se elevó a 80°C durante 7 hs y luego se enfrió a 9°C en un baño de agua helada. A continuación se agregó cuidadosamente Metanol (2,0 L, 1,6 kg, 49,4 moles). Se eliminó el solvente para obtener dos líquidos que pesaban 1,28 kg. Estos se disolvieron en una mezcla de 0,84 L de agua y 2,1 L de éter y se separaron. La fase orgánica se lavó una vez con 0,78 L 25 % (v / v) de una solución acuosa de cloruro de sodio y se secó sobre 0,13 kg de MgSO_4 . La misma se filtró a través de papel de filtro Whatman n° 1 y se eliminó el solvente para obtener 0,985 kg de un líquido anaranjado. La NMR protónica mostró un 80 % del producto y un 19 % de éster no bromado. La HPLC mostró 82 % del producto

y 18 % de éster no bromado. La HPLC se corrió en una columna Zorbax SB – C8 que medía 250 x 4,6 mm y un tamaño de partículas de 5 μ , a 30 ° C. La fase móvil fue 60 : 40 (v / v) acetonitrilo: 0,1 % H_3PO_4 a 1,5 ml / min. La detección fue a 210 nm. La muestra inyectada de 1 μ l se disolvió en acetonitrilo a una concentración de 10 mg / ml. El producto tuvo un tiempo de retención de 5,0 min y el éster no bromado de 3,8 min. Este producto crudo se purificó mediante destilación al vacío para obtener un producto de 96 % de pureza y 84 % de rendimiento. El producto NMR protónica (CDCl_3 300 MHz) mostró desplazamientos a 3,79 (s, 3H), 5,32 (s, 1H) y 7,20 – 7,55 (m, 4H) ppm.

Ejemplo 2

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



Este paso fue similar al mismo paso de la patente de los Estados

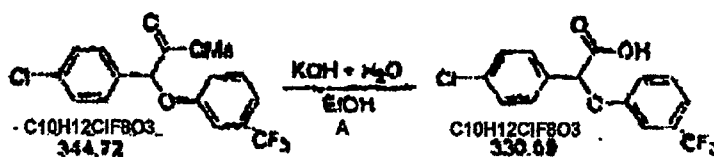
Unidos 3.517.050 con la excepción de que se usó t – butóxido de potasio en lugar de metóxido de sodio, para prevenir la formación del metil éter correspondiente. Un reactor Morton de 5 L equipado con un agitador superior vertical, un detector de temperatura del recipiente, y un embudo de alimentación bajo atmósfera de nitrógeno se cargó con acetato de bromo – (4 – clorofenil) de metilo (830 g, 3,0 moles) y THF (600 ml). El reactor se enfrió a 14 ° $\pm$ 3 ° C en un baño de agua helada y a continuación se agregó una solución enfriada de manera similar de trifluorometil – m – cresol (530 g, 3,3 moles) en t – butóxido de potasio 1,0 M en THF (3,1 l, 3,1 moles). La reacción se desarrolló exotérmicamente con un aumento de temperatura típico que excedía los 25 ° C, y el agregado se controló para mantener la temperatura a 15 ° $\pm$ 2 ° C, y se agitó a temperatura ambiente durante 2 hs. La HPLC se corrió en una columna Zorbax SB – C8 que medía 250 x 4,6 mm y con un tamaño de partícula de 5 μ , a 30 ° C. La fase móvil fue 60 : 40 (p : p) acetonitrilo: 0,1 % H_3PO_4 a 1,5 ml / min. La detección fue a 210 nm. La muestra inyectada de 1 μ l se disolvió en acetonitrilo a una concentración de 10 mg / ml. El producto tuvo un tiempo de retención de 9,6 min, el éster inicial eluyó a 5,0

min, el fenol a 3,0 y el éster no bromado a los 3,8 min. El solvente se eliminó usando un evaporador por rotación para obtener un barro amarillo que se disolvió en una mezcla de 4,0 L de agua y 12,0 L de éter. La mezcla se separó y la fase orgánica se lavó una vez con 1,6 L de una solución acuosa de NaOH al 5 % (v / v) seguido de 1,6 litros de agua y finalmente con 1,6 L de una solución acuosa de NaCl al 25 % (v / v). La fase orgánica se secó sobre 0,32 kg de MgSO_4 y se filtró a través de papel de filtro Whatman n° 1. El solvente se eliminó para obtener 1,0 kg de cristales blancos húmedos. Los mismos se recrystalizaron en un evaporador por rotación disolviéndolos en 1,0 L de metilciclohexano a 75 °C y enfriando a continuación a 20 °C. Los cristales se filtraron a través de papel de filtro Whatman n° 1 y se lavaron con 3 porciones de 0,25 L de metilciclohexano frío (15 °C). El producto húmedo (0,97 kg) se secó durante la noche para obtener 0,81 kg del producto de 98 % de pureza que corresponde a un rendimiento de 79 %. El producto NMR protónica (CDCl_3 , 300 MHz) mostró desplazamientos a 3,75 (s, 3H), 5,63 (s, 1H) y 7,05 – 7,55 (m, 8H).

Ejemplo 3

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

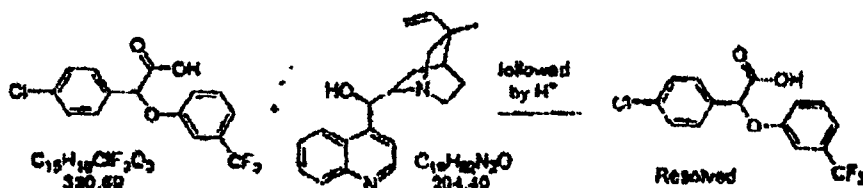
Un reactor Morton de 12 L con un agitador magnético, un controlador de la temperatura del recipiente, un condensador del reflujo y bajo atmósfera de nitrógeno se cargó con 4 – clorofenil – (3 – trifluorometilfenoxi) - acetato (810 g, 2,3 moles) y etanol absoluto (5,8 l) y se calentó con agitación a 57 °C para disolver el sólido. A continuación se agregó una solución de KOH (520 g, 9,3 moles) en 0,98 L de agua. La solución se sometió a reflujo durante 30 min y se eliminó el solvente mediante evaporación por rotación para obtener 2,03 kg de una mezcla de dos líquidos apenas coloreados. Los mismos se disolvieron en agua (16 L) y se trataron con 16 g de Norit neutro, se filtraron a continuación a través de un relleno de tierra de infusorios contenidos en un papel de filtro Whatman n° 1. El pH del filtrado se bajó de un rango inicial de 13 a un rango



comprendido entre 1 y 2 agregando un total de 2,75 L de HCl 3 M (8,25 moles). Después del agregado de los primeros 2,30 L de ácido se formó un sólido muy pegajoso y a continuación se agregó éter (7 l). Se separaron las dos capas y la capa orgánica se secó sobre MgSO_4 (230 g) y se filtró a través de papel de filtro Whatman n° 1. A continuación se eliminó el solvente para obtener 0,85 kg de un jarabe blanco acuoso. A continuación el material se recrystalizó en un evaporador por rotación agregando metilciclohexano (800 ml) y enfriando a 18 °C con rotación lenta. A continuación se bajó la temperatura a 5 °C y los cristales se filtraron y lavaron 5 veces con porciones de 0,10 L de metilciclohexano frío (0 °C) para obtener 0,59 kg de cristales húmedos. Estos cristales húmedos se secaron para obtener 0,48 kg (62 % de rendimiento) de un producto sin ácido p – clorofenilacético detectable en la NMR protónica. El producto NRM protónica (CDCl_3 , 300 MHz) mostró desplazamientos a 5,65 (s, 1H) 7,02 – 7,58 (m, 8H) y 10,6 (s, 1H).

Ejemplo 4

Este Ejemplo se refiere a la preparación de enantiómeros resueltos de ácido 4 – clorofenil – (3 – trifluorometilfenoxi) – acético.



Se cargó un reactor Morton de 12 L con un agitador superior vertical con ácido 4 – clorofenil – (3 – trifluorometil – fenoxi) – acético (350 g, 1,06 moles) e isopropanol (4,0 l) y se calentó a $65^\circ \pm 3^\circ\text{C}$. Se agregó una lechada de (-) cinconidina (300g, 1,02 moles) en isopropanol (2,0 l), enjuagando los sólidos introducidos al reactor con 0,8 L adicionales de isopropanol. La temperatura bajó de 65° a 56°C , se formó una solución final anaranjada, y la mezcla se calentó a $55^\circ \pm 5^\circ\text{C}$ durante 2 hs. Mediante filtración a través de papel de filtro Whatman n° 1 se obtuvieron cristales finos, lavando una vez con 0,7 L de isopropanol caliente (55°C). A continuación los cristales se secaron durante 16 hs a temperatura ambiente en un horno de vacío de 12,6 L bajo una corriente de nitrógeno de 5 LPM. El sólido seco pesó 0,37 kg y tuvo un exceso

enantiomérico de 80 % (ee) del enantiómero (+).

El exceso enantiomérico se determinó mediante HPLC usando una columna de 250 x 4,6 mm R, R – WhelkO – 1, a temperatura ambiente. Las muestras inyectadas fueron de 20 μ l de soluciones de 2 mg / ml en etanol. La columna se eluyó con 95 : 5 : 0,4, de hexano : isopropanol : ácido acético a una velocidad de 1 ml / min. La detección fue a 210 nm. El enantiómero (+) eluyó entre 7 y 8 min y el enantiómero (-) entre 11 y 13 min. El licor madre dio una segunda recolección casi inmediatamente después de filtrar, se lavó y secó para garantizar 0,06 kg de sal con un 90 % de enantiómero (-), de manera similar, se obtuvo una tercera, una cuarta y una quinta recolección que pesaban 0,03 kg 0,03 kg y 0,7 kg respectivamente; con un exceso de enantiómero (-) de 88%, 89 % y 92%, respectivamente.

La sal cruda (+) (320 g) se recrystalizó de una mezcla de etanol (5,9 l) metanol (1,2 l). La mezcla se calentó con agitación superior para su disolución, se enfrió a temperatura ambiente durante 16 hs y se filtró y lavó 2 veces con 0,20 L de 5 : 1 (v : v) etanol : metanol. Los cristales se secaron para obtener 0,24 kg de enantiómero (+) que tenía un ee de 97 %. Esto correspondía a una recuperación del 80 % de este isómero. La sal resuelta se suspendió en una mezcla de éter (6,5 l) y agua (4,0 l) con agitación superior vertical. El pH se bajó a 0 – 1, siendo medido con tiras indicadoras de pH con una solución concentrada de SO_4H_2 (0,13 l) en agua (2,5 l). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó dos veces con porciones de 6,5 L de agua. Se agregó éter (1,9 l) y la capa orgánica se lavó una vez mas con 6,5 L de agua. Después de la separación final, se agregó 0,1 litro de solución acuosa de NaCl al 25 % (v / v) para eliminar cualquier emulsión leve. El producto se secó sobre 0,19 kg MgSO_4 , se filtró, y se eliminó el solvente para obtener 0,13 kg de un jarabe acuoso blanco que solidifico al enfriar. Esto correspondía a una recuperación del 97 % del producto que tenía un ee de 95 % del enantiómero (+). $[\alpha]_D + 5,814^\circ$ (c. – 0,069 en alcohol metílico).

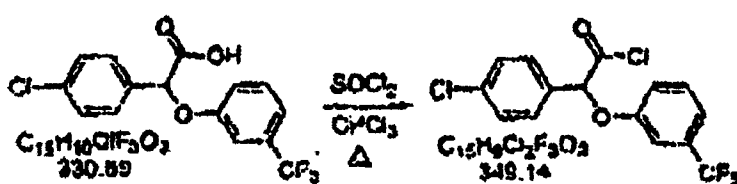
La sal cruda combinada (-) (200 g) se recrystalizó de isopropanol (3,1 l). La mezcla se calentó para disolver la mayor parte de los sólidos y se sometió a filtración rápida para eliminar los sólidos insolubles. A continuación la mezcla se enfrió agitando a temperatura ambiente durante 16 hs, se filtró, lavó, y secó para obtener 0,16 kg del enantiómero (-) que tenía un ee de 97 %. Esto corresponde a un 49 % de recuperación

de este isómero. El enantiómero (-) del ácido se aisló de la misma manera como se describió anteriormente para el ácido (+). La sal resuelta se suspendió en éter y agua, se bajó el pH con H_2SO_4 concentrado, y se extrajo el producto en la fase orgánica.

Ejemplo 5

A.

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



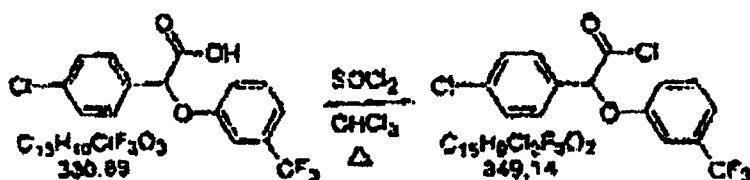
Se cargó un vaso de evaporación de 2 L provisto con

un agitador magnético, un adaptador Claissen, un termómetro de recipiente y un condensador a reflujo orientado a un lavador de gases con ácido 4 – clorofenil - (3 – trifluorometilfenoxi) acético (-) (143 g, 0,42 moles en base al 97 % de pureza) CHCl_3 (170 ml); se calentó a ebullición con el objeto de disolver. Se agregó SOCl_2 (38 ml, 62,1 g, 0,52 moles). La mezcla se calentó a reflujo (68°C finales) durante 4,5 hs y a continuación se eliminaron los volátiles para obtener 151 g de un líquido turbio amarillo (103 % de rendimiento aparente). El material se usó en el próximo paso sin posterior purificación.

C.

D. Preparación de cloruro de 4 – clorofenil - (3 – trifluorofenilfenoxi) – de acetilo (+).

Un vaso de evaporación de 3 L con agitador magnético, adaptador Claissen,



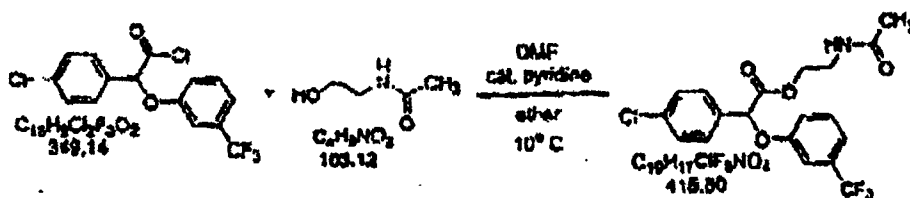
termómetro de recipiente y condensador a reflujo orientado a

un lavador de gases se cargó con ácido 4 – clorofenil - (3 – trifluorometilfenoxi) – acético (+) (131 g, 0,37 moles) y CHCl_3 (152 ml) y se calentó a ebullición con el objeto de disolver. Se agregó SOCl_2 (35 ml, 56,5 g, 0,48 moles). La mezcla se calentó a reflujo (70 °C finales) durante 4 hs y a continuación se eliminaron los volátiles para obtener 139 g de un líquido. El material se usó en el próximo paso sin posterior purificación.

Ejemplo 6

A.

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

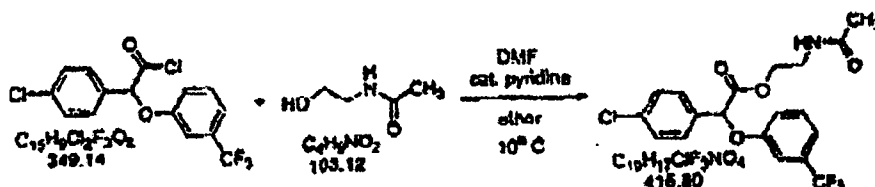


Un vaso de base redondeada provisto con un agitador magnético, un termómetro de recipiente, bajo atmósfera de nitrógeno y en baño de agua helada se cargó con DMF (420 ml), piridina (37 ml, 36 g, 0,46 moles) y N - acetoetanolamina (39 ml, 43 g, 0,42 moles). La mezcla se enfrió a una temperatura comprendida entre 0° y 5°c y la solución cloruro de 4 - clorofenil - (3 - trifluorometilfenoxi) - acetilo (-) (151 g, 0,42 moles en base a 100 % del rendimiento del paso anterior) en éter (170 ml) se agregó durante un período de 40 min como para mantener la temperatura del recipiente por debajo de 13 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 hs y se disolvió agregando agua (960 ml) seguido de acetato de etilo (630 ml). El agregado de agua se llevó a cabo de manera exotérmica aumentando la temperatura a 24° - 34 °C. El agregado de acetato de etilo produjo una caída de la temperatura a 30 °C. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo una vez con acetato de etilo (125 ml). Las capas orgánicas combinadas se extrajeron una vez con solución acuosa de NaHCO₃ al 7 % (p / p) (125 ml) y cinco veces con porciones de 60 ml de agua y luego dos veces con porciones de 60 ml de NaCl acuoso al 25 % (v / v). El producto se secó sobre MgSO₄ (42 g) y se filtró mediante papel de filtro Whatman n° 1. Se eliminó el solvente usando un evaporador por rotación para obtener un jarabe amarillo correspondiente a un rendimiento de un 80 % en base a NMR protónica que mostraba 87 % del producto, 8 % de EtOAc, 4% de amida no bromada y 1 % de DMF. Este jarabe se disolvió en MTBE (225 ml) a temperatura ambiente, se enfrió (-15 °C) y se agregó 85 % de hexanos (400 ml) con agitación. Se formaron dos líquidos, y a continuación cristales, luego la mezcla formó un sólido. La masa sólida se raspó y colocó en un embudo Buchner equipado con Whatman n° 1, se compactó y se lavó 3 veces con porciones de 100 ml (p / p) de 1 : 1 MTBE : hexanos para obtener 312 g de

producto húmedo que al secar dio 127 g, lo que corresponde a un rendimiento del 73 %.

C.

D. Preparación de 2 - acetamidoetil 4 - clorofenil - (3 - trifluorometilfenoxi) - acetato (+).



Se cargó un vaso de base redondeada de 3 L con agitador magnético, termómetro de recipiente, bajo atmósfera de nitrógeno y en baño de agua helada, con DMF (365 ml), piridina (33 ml, 32,3 g, 0,41 moles) y N - acetoetanolamina (34 ml, 38,1 g, 0,37 moles). La mezcla se enfrió a 0° - 5°C y se agregó una solución de cloruro de 4 - clorofenil - (3 - trifluorometilfenoxi) - acetilo (+) (139 g, 0,37 moles en base al 100 % del rendimiento del paso anterior) en éter (155 ml) durante 25 min, período como para mantener la temperatura del recipiente por debajo de 13 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 hs y se disolvió agregando agua (850 ml) seguido de acetato de etilo (550 ml). El agregado de agua actuó exotérmicamente aumentando la temperatura entre 24° y 34 °C. El agregado de acetato de etilo provocó una caída de la temperatura a 30 °C. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo una vez con acetato de etilo (110 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con porciones de 55 ml de agua y luego 5 veces con porciones de 55 ml de solución acuosa de NaCl al 25 % (v / v), se secó sobre 30 g de SO₄Mg y se filtró a través de papel de filtro Whatman n° 1. Se eliminó el solvente usando un evaporador por rotación para obtener 168 g de un líquido amarillo correspondiente a un rendimiento de un 86 % en base a NMR protónica que mostró 79 % del producto, 9% de EtOAc, 8 % de amida no bromada, y 4 % de DMF. Este producto se cristalizó en un vaso de precipitación de 800 ml disolviendo en MTBE (200 ml) a temperatura ambiente, enfriando a -15 ° durante 1,4 hs, agregando 200 ml de hexanos 85 % y enfriando a continuación durante 1 h. La masa sólida se raspó y se colocó en un embudo Buchner equipado con Whatman n° 1, se compactó y se lavó una vez con 1 : 1 (v : v) MTBE 100 ml para

obtener 201 g de producto húmedo. El producto se secó bajo corriente de nitrógeno y se trituró con hexanos 85 % (700 ml) usando un agitador superior vertical. El material se filtró y se secó para obtener 87g del producto. $[\alpha]_D + 2,769^\circ$ (c. = 0,048 en alcohol metílico). $[\alpha]_D - 2,716^\circ$ (c. = 0,049 en alcohol metílico). Los enantiómeros (+) y (-) también se analizaron por HPLC usando una columna de 250 x 4,6 mm R, R – WhelkO – 1 a temperatura ambiente. Las muestras inyectadas fueron 20 μ l de soluciones de 2 mg / ml de las muestras en etanol. La columna se eluyó con 60 : 40 isopropanol : hexano a una velocidad de 1 ml / min. La detección fue a 200 nm. El enantiómero (+) eluyó entre 5,0 y 5,2 min y el enantiómero (-) entre 5,7 y 5,9 min.

Ejemplo 7

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

Se ensayó la actividad de hidroxilación de la tolbutamida ($100 \mu\text{M}^{14}$ C – tolbutamida; 1mM NADPH) en un conjunto de microsomas de hígado humano (0,6 mg de proteína / ml) durante 60 minutos a 37 °C, con y sin los compuestos de la prueba. Se probaron el ácido halofénico racémico, el ácido halofénico (-) y el ácido halofénico (+) (0,25 μM a 40 μM). Como se muestra en la Figura 1, el ácido halofénico racémico inhibió la actividad de hidroxilación de la tulbamida mediada por CYP2C9 en microsomas de hígado humano con un IC_{50} aparente de 0,45 μM . Se observó una diferencia sustancial en cuanto a la capacidad de los enantiómeros del ácido halofénico para inhibir el CYP2C9. El ácido halofénico (+) tenía un IC_{50} aparente de 0,22 μM mientras que el ácido halofénico (-) tenía una potencia 20 veces menor con un IC_{50} aparente de 3,6 μM .

Ejemplo 8

Este ejemplo se refiere al lapso de tiempo transcurrido para disminuir la glucosa mediante los compuestos de la presente invención.

A. Materiales y Métodos

Se adquirieron ratones macho, C57BL / 6J ob / ob de 9 a 10 semanas de edad de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME USA). Los animales se alojaron (4 – 5 ratones / jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y a una humedad relativa de 50 %, y se mantuvieron con una dieta consistente en alimento para roedores Purina y

agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de cada animal de la vena de la cola. Se usaron ratones que sin ayuno tenían niveles de glucosa en plasma comprendidos entre 300 y 500 mg / dl. Cada grupo de tratamiento consistió de 10 ratones que se distribuyeron de manera tal que las medias de los niveles de glucosa en plasma fueran equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. A los ratones se les suministró la dosis oralmente mediante alimentación por sonda, ya sea de vehículo, halofenato racémico (250 mg / kg), halofenato (-) (250 mg / kg) o halofenato (+) (250 mg / kg). Todos los compuestos se suministraron en una formulación líquida que contenía sulfóxido de dimetilo al 5 % (v / v) (DMSO), tween 80 1 % (v / v) y metilcelulosa 2,7 % (p / v). El volumen del alimento por sonda fue de 10 ml / kg. Se obtuvieron muestras de sangre a 1,5; 3; 4,5; 6; 7,5; 9 y 24 hs después de la dosis y se analizó la glucosa plasmática. Las concentraciones de glucosa plasmática se determinaron colorimétricamente usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA). La diferencia significativa entre los grupos (comparando los grupos tratados con droga con los tratados con vehículo o entre grupos tratados con drogas) se evaluó usando el test t de Student no apareado.

B. Resultados

Como se ilustra en la Figura 2 el halofenato racémico redujo significativamente las concentraciones de glucosa en plasma en la mayoría de los tiempos medidos con una actividad pico a las 9 hs. El halofenato (-) mostró una reducción de la glucosa en plasma tempranamente, a 1,5 hs y alcanzó su actividad pico a las 3 hs. Las concentraciones de glucosa en plasma permanecieron bajas hasta las 24 hs. El halofenato (+) no mostró una actividad significativa hasta las 4,5 hs y la actividad pico fue a las 7,5 hs. Posteriormente la glucosa plasmática volvió a subir. Hubo diferencias significativas entre los enantiómeros (-) y (+) del halofenato para los puntos correspondientes a 3 y 24 hs. La actividad del halofenato (-) comenzó más rápidamente y se mantuvo durante más tiempo.

Ejemplo 9

Este ejemplo se refiere a la actividad de los compuestos de la presente invención para disminuir la glucosa.

A. Materiales y Métodos.

Se adquirieron ratones machos, C57BL / 6J ob / ob de 8 – 9 semanas de edad de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Los animales se alojaron (4 – 5 ratones / jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y a una humedad relativa de 50 %, y se mantuvieron con una dieta consistente en alimento para roedores Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de cada animal de la vena de la cola. Se usaron los animales que sin ayuno tenían niveles de glucosa en plasma comprendidos entre 300 y 520 mg / dl. Cada grupo de tratamiento consistió de 10 ratones que se distribuyeron de manera que la medida de los niveles de glucosa en plasma fueran equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. Se suministró a los ratones la dosis oralmente mediante alimentación por sonda una vez al día durante 5 días, ya sea con vehículo, halofenato racémico (250 mg / kg), halofenato (-) (125 y 250 mg / kg) o halofenato (+) (125 y 250 mg / kg). El halofenato racémico se suministró en metilcelulosa 2,7 % (p / v) y tanto el enantiómero (-) como el enantiómero (+) se suministraron en una formulación líquida que contenía sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 5 % (v / v) tween 80 1 % (v / v) y metilcelulosa 2,7 % (p / v). El volumen del alimento por sonda fue de 10 ml / kg. Se obtuvieron muestras de sangre a 3; 6; 27; 30 y 120 hs después de la primera dosis y se analizaron para determinar glucosa plasmática e insulina. Los animales fueron sometidos a ayuno durante la noche (14 hs) antes del muestreo de las 120 hs. Las concentraciones de glucosa plasmática se determinaron colorimétricamente usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA). Las concentraciones de insulina en plasma se determinaron usando el Rat Insulin RIA Kit de Linco Research Inc. (St Charles, MO, USA). Las diferencias significativas entre grupos (comparando los grupos tratados con droga con los tratados con vehículo) se evaluaron usando el test t de Student no apareado.

B. Resultados

Como se ilustra en la Figura 3 el halofenato (-) redujo significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a 6, 27 y 30 hs. El halofenato (-), a ambos niveles de dosificación, disminuyó significativamente los niveles de glucosa en plasma a 6, 27 y 30 hs. La dosis alta (250 mg / kg) también fue activa a las 3 hs. El halofenato (+) a 125 mg / kg mostró una reducción de glucosa en plasma a 6 y 27 hs. Mientras que a 250 mg / kg, se observaron disminuciones de las concentraciones de glucosa en

plasma a 3, 6, 27 y 30 hs. Los niveles de insulina en plasma se muestran en la Figura 4. El halofenato racémico redujo significativamente la insulina a 6 y 27 hs. Los niveles de insulina se redujeron significativamente en el grupo halofenato (-) a las 27 hs para ambas dosis y se redujo significativamente a 30 hs en animales tratados con 150 mg / kg / día. El halofenato (+) redujo significativamente la insulina a 27 y 30 hs para ambas dosis. A 125 mg / kg / día también se observó una disminución significativa después de 6 hs. Después de un ayuno durante la noche (para 120 hs), todos los tratamientos redujeron significativamente las concentraciones de glucosa en plasma (Figura 5). Las insulinas plasmáticas disminuyeron significativamente en todos los grupos tratados con halofenato excepto para halofenato (+) a 125 mg / kg / día (Figura 6).

Ejemplo 10

Este ejemplo se refiere a la mejora en cuanto a la resistencia a la insulina y a la tolerancia disminuida a la glucosa para los compuestos de la presente invención.

A. Materiales y Métodos.

Ratas macho, Zucker fa / fa (Charles River) de 8 – 9 semanas de edad se alojaron (2 - 3 ratas / jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 °C y a una humedad relativa de 50 %, y se mantuvieron con una dieta consistente en alimento para roedores Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento las ratas se distribuyeron en 6 grupos en base a su peso corporal. Cada grupo de tratamiento consistió en 8 ratas. Se suministró a las ratas la dosis oralmente mediante alimentación por sonda, una sola vez, ya sea de vehículo, halofenato racémico (100 mg / kg), halofenato (-) (50 o 100 mg / kg) o halofenato (+) (50 o 100 mg / kg). Todos los compuestos se suministraron en una formulación líquida que contenía sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 5 % (v / v), tween 80 1 % (v / v) y metilcelulosa 2,7 % (p / v). El volumen de alimento por sonda fue de 10 ml / kg. Todas las ratas recibieron una carga de glucosa oral (1,9 g / kg) 5, 5 hs después del tratamiento y 4 hs después de que se les retirara el alimento. Se obtuvieron muestras de sangre a 0, 15, 30, 60, 90, 120, y 180 minutos después de la cargas de glucosa para medir la glucosa plasmática. Los grupos correspondientes a vehículo, halofenato (-) (50 mg / kg) y halofenato (+) (50 mg / kg) se sometieron a una carga de insulina seguida de una administración diaria por sonda de los respectivos tratamientos durante 5 días. En el día 5 las ratas recibieron

insulina intravenosa (0,75 U / kg) 5, 5 hs después de la última dosis y 4 hs después de que se retirara el alimento. Las muestras sanguíneas se tomaron a 3, 6, 9, 12, 15 y 18 minutos después de la inyección de insulina para medir glucosa en plasma. Las concentraciones de glucosa plasmática se determinaron colorimétricamente usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA). Las diferencias significativas entre grupos (comparando los grupos tratados con droga, con los tratados con vehículo, o entre grupos tratados con drogas) se evaluaron usando el test t de Student no apareado.

B. Resultados

Como se ilustra en la Figura 7A, las ratas adiposas Zucker con Tolerancia Disminuida a la Glucosa tenían menores niveles de glucosa después de una prueba de glucosa subsiguiente al tratamiento con halofenato. El halofenato (-) fue el más efectivo en disminuir la glucosa y tenía un efecto que persistía más tiempo que el racemato o el enantiómero (+). La Figura 7 B muestra el área incremental bajo la curva (AUC) para todos los grupos de tratamiento. Los animales tratados con el halofenato (-) mostraron menores reducciones en el área de la glucosa en relación con los grupos control tratados con vehículo. Aunque el AUC estaba disminuido en los grupos tratados con el racemato o el halofenato (+), los efectos no fueron tan grandes como en las ratas tratadas con el halofenato (-) y no había una diferencia estadísticamente significativa.

Los cambios en la sensibilidad a la insulina se establecieron monitoreando el descenso de glucosa luego de una inyección intravenosa de insulina. La pendiente de la recta es una señal directa de la sensibilidad de la insulina del animal probado. Como se muestra en la Figura 8, la sensibilidad a la insulina mejoraba significativamente después de 5 días de tratamiento con halofenato (-), en comparación con ratas control tratadas con vehículo ($p < 0,01$) y en animales tratados con halofenato (+) ($p < 0,05$). El tratamiento con halofenato tenía poco efecto en relación a la sensibilidad a la insulina que no fue significativamente diferente del control tratado con vehículo ($p = 0,083$). El tratamiento con halofenato (-) redujo sustancialmente la resistencia a la insulina en las ratas adiposas Zucker, un modelo bien establecido para tolerancia disminuida a la glucosa y resistencia a la insulina.

Ejemplo 11

Este ejemplo se refiere a la actividad hipolipemiante de los compuestos de la presente invención.

A. Materiales y Métodos.

Se adquirieron ratas macho Zucker adiposas, diabéticas (ZDF) de 9 semanas de edad de GMI Laboratories (Indianapolis, IN). Se administró mediante sonda oral vehículo o enantiómeros de halofenato de acuerdo a un esquema diario comenzando a los 74 días de edad. Un día antes del tratamiento se obtuvieron muestras de sangre iniciales para analizar y también a los tiempos indicados en el protocolo del tratamiento. La sangre se analizó en relación a los triglicéridos y colesterol plasmáticos mediante técnicas estándar.

B. Resultados

En el experimento 1 los animales recibieron una dosis de 25 mg / kg / día. Como se muestra en la Figura 9 A y en la Figura 9 B, se observó un decrecimiento significativo en el colesterol plasmático solo en los animales tratados con halofenato (-), luego de 7 y 13 días de tratamiento. En el experimento II los animales de 107 días de edad recibieron dosis diarias de ya sea 12,5 mg / kg / día o 37,5 mg / kg / día de los enantiómeros de halofenato (-) y (+). Como se muestra en la Figura 10 A y en la Figura 10 B, el colesterol plasmático fue significativamente menor con la dosis alta después de 7 días pero no después de 14 días de tratamiento, para el halofenato (+). En contraste, para el halofenato (-) en la dosis baja, se observó una significativa disminución en el colesterol después de 7 días. Para la dosis alta se notó una disminución mucho mayor en el colesterol plasmático que fue evidente tanto después de 7 días como de 14 días de tratamiento. Como se muestra en la Figura 11 A y en la Figura 11 B, también se notó una disminución significativa en los triglicéridos plasmáticos 7 días después del tratamiento para la dosis alta, que fue de mayor magnitud en animales tratados con el enantiómero (-) del halofenato.

Ejemplo 12

Este ejemplo se refiere a la actividad hipoglucemiante de análogos de halofenato ($\pm$).

A. Materiales y Métodos.

Se adquirieron ratas macho, C57BL / 6J ob / ob de 8 – 9 semanas de edad de

Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Los animales se alojaron (4 – 5 ratones / jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C y a 50 ± 20 % de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta consistente en alimento para roedores Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de cada animal de la vena de la cola. Se usaron los animales que sin ayuno tenían niveles de glucosa comprendidos entre 250 y 500 mg / dl. Cada grupo de tratamiento consistió de 8 - 10 ratones que se distribuyeron de manera tal que la media de los niveles de glucosa fueran equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. A los ratones se les suministró la dosis oralmente mediante alimentación por sonda una vez al día durante 1 - 3 días, ya sea con vehículo, ácido halofénico (-), análogo 14, 29, 33, 34, 35, 36, 37, o 38, a 125 mg / kg. Los compuestos se suministraron en una formulación líquida que contenía sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 5 % (v / v) tween 80 1 % (v / v) y metilcelulosa 0,9 % (p / v). El volumen del alimento por sonda fue de 10 ml / kg. Se obtuvieron muestras de sangre a las 6 hs post dosis y se analizaron en relación a la glucosa plasmática. La ingesta de alimento y el peso corporal se midieron diariamente. Las concentraciones de glucosa plasmática se determinaron colorimétricamente usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA). Las diferencias significativas entre grupos (comparando los grupos tratados con droga con los tratados con vehículo) se evaluaron usando el test t de Student no apareado.

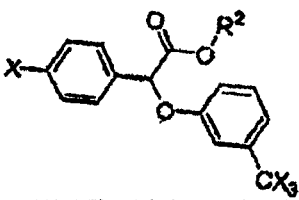
B. Resultados

Como se ilustra en la Tabla 2, los compuestos se evaluaron en cinco experimentos diferentes. Una sola dosis de ácido halofénico (-) disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6 hs. El análogo 14 disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6, 30 y 54 hs. El análogo 33 disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6 y 54 hs. Los análogos 29 y 38 disminuyeron significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6, 30 y 54 hs. Los análogos 35 y 36 disminuyeron significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 30 y 54 hs. El análogo 37 disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las

54 hs. Los tratamientos con compuestos no afectaron la ingesta de los alimentos de los animales ni su peso corporal.

Fórmula II

Tabla 1: análogos halofenatos (+). Compuestos descriptos en referencia a la Fórmula II.



Compuesto N°	X	CX ₃	R ²
14	F	CF ₃	(CH ₂) ₂ NHAc
29	Br	CF ₃	(CH ₂) ₂ NHAc
33	Cl	CF ₃	(CH ₂) ₃ CH ₃
35	Cl	CF ₃	(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂
36	Cl	CF ₃	(CH ₂) ₂ NHCOPh
37	Cl	CF ₃	CH ₂ CONH ₂
38	Cl	CF ₃	CH ₂ CON(CH ₃) ₂

Tabla 2: Actividades para disminuir glucosa de los análogos Halofenatos (±)

	Predosis	6 horas		30 horas		54 horas	
	Glucosa (mg / dl)	Glucosa a (mg / dl)	P Valor Vs. veh	Glucosa a (mg / dl)	P Valor Vs. veh	Glucosa a (mg / dl)	P Valor Vs. veh
Vehículo	313±18	303±19,8		NA		NA	
Acido halofénico (.)	312,9±17,7	163,8±11,8	0,0011	NA		NA	
Vehículo	360,2±27,8	405,8±15,8		356,0±27,6		386,1±20,6	
Análogo 14	361,0±17,1	328,9±34,1	0,0444	267,0±21,3	0,0099	293,0±29,4	
Vehículo	291,0±18,5	363,0±25,1		340,8±30,0		351,5±23,8	

Análogo 33	292,0±19,1	227,5±13,2	0,0001	298,0±15,3	0,1119	286,6±9,9	0,0125
Vehículo	387,1±14,3	371,5±24,2		326,2±22,5		374,0±37,9	
Análogo 29	387,1±16,0	299,7±24,5	0,0259	237,4±14,9	0,0020	293,3±9,7	0,0268
Análogo 35	387,0±18,0	319,6±26,7	0,0834	276,8±17,6	0,0504	286,2±31,5	0,0458
Análogo 37	387,4±18,8	345,4±19,7	NS	312,5±21,7	NS	285,1±14,7	0,0210
Vehículo	329,6±16,1	361,8±23,2		346,5±24,6		379,2±24,4	
Análogo 36	329,7±17,6	300,5±27,3	0,0522	249,7±8,6	0,0008	272,2±18,4	0,0013
Análogo 38	329,4 ± 18,9	303,2±18,2	0,0312	245,6± 15,6	0,0014	243,1±10,6	0,0000

Ejemplo 13

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

A. Materiales y Métodos.

Se adquirieron ratas macho ZDF de 8 – 9 semanas de edad de Genetic Models, Inc. (Indianapolis, IN). Los animales se alojaron (3 ratas / jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C de temperatura y 50 ± 20 % de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta de alimento para roedores Purina y agua a voluntad. Antes del tratamiento se obtuvieron muestras de sangre de cada animal de la vena de la cola. Se usaron las ratas que tenían niveles de glucosa en plasma comprendidos entre 200 y 500 mg / dl después de 4 hs de ayuno. Cada grupo de tratamiento consistió de 8 – 10 ratas que se distribuyeron de manera tal que las medias de los niveles de glucosa fueran equivalentes para cada grupo al comienzo del estudio. A las ratas se les suministró la dosis oralmente mediante alimentación por sonda una vez al día durante 3 días, ya sea con vehículo, halofenato (-) o halofenato (+) a 50 mg / kg. Los compuestos se suministraron en una formulación líquida que contenía sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 5 % (v / v) tween 80 1 % (v / v) y metilcelulosa 0,9 % (p / v). El volumen del alimento por sonda fue de 5 ml / kg. Se obtuvieron muestras de sangre a las 5 hs post dosis en el día 2 y 3. Las concentraciones de glucosa plasmática se determinaron colorimétricamente usando el método de la glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA). Las diferencias significativas entre grupos

(comparando los grupos tratados con droga con los tratados con vehículo) se evaluaron usando el test t de Student no apareado.

A. Resultados

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

Ejemplo 14

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

A. Materiales y Métodos.

Se adquirieron ratas macho SD de 225 – 250 g de Charles River. Los animales se alojaron (3 ratas / jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C de temperatura y a 50 ± 20 % de humedad relativa y se mantuvieron con una dieta de alimento para roedores Purina y agua a voluntad. Se ubicó un catéter en la arteria carótida izquierda bajo fenobarbital sódico (50 mg / kg IP) y se permitió que los animales se recuperaran durante 2 días antes del tratamiento. Se suministró una sola dosis de halofenato (+) o de halofenato (-) de 50 mg / kg mediante alimentación oral. Los compuestos se suministraron en una formulación líquida que contenía sulfóxido de dimetilo (DMSO) al 5 % (v / v) tween 80 1 % (v / v) y metilcelulosa 0,9 % (p / v). El volumen del alimento por sonda fue de 5 ml / kg. Se obtuvieron muestras de sangre a 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 hs post dosis. Las muestras de plasma se analizaron para cada enantiómero de ácido halofénico (-) y ácido halofénico (+) mediante un ensayo HPLC específico quiral, puesto que los ésteres son prodrogas diseñadas para convertirse en sus respectivos ácidos enantioméricos *in vivo*.

B. Resultados

Después de la administración oral de halofenato (+), se detectaron en muestras de plasma, tanto el ácido halofénico (-) como el ácido halofénico (+). En la Tabla 3 se evidencia que los ácidos enantioméricos tenían diferentes perfiles de disposición. La eliminación del ácido halofénico (-) fue mucho menor que la del ácido halofénico (+). Como resultado de esto, el AUC del ácido halofénico (-) fue significativamente mayor

que el AUC del ácido halofénico (+), 4.708,0 vs 758,0 µg / hora / ml, y la vida media terminal fue 46,8 vs. 14,3 horas.

Después de la administración de halofenato (-) el perfil disposicional del ácido halofénico (-) fue básicamente idéntico al correspondiente a la administración de halofenato (+) mientras que la vida media terminal es la misma (Tabla 2). Los Cmax y AUC del ácido halofénico (-) fueron proporcionalmente mayores simplemente debido a las mayores cantidades de halofenato (-) administradas (Tabla 3). El ácido halofénico (+) también se detectó en plasma pero la concentración fue mucho menor que la correspondiente al ácido halofénico (-). Se especula que el ácido halofénico positivo se formó en vivo, puesto que la vida media terminal (T_{1/2}) de ambos ácidos fue semejante.

Estos resultados sugieren que es más deseable el uso del halofenato (-) puesto que el AUC del ácido halofénico (-) fue significativamente mayor que el AUC del el ácido halofénico (+).

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

Droga administrada	Halofenato (-) (n=3)		Halofenato (+) (n = 1)	
	-	+	-	+
Dosis administrada *	50 mg / kg	0 (metabolito)	25 mg / kg	25 mg / kg
C _{max} (µg / ml)	114,6±29,7	2,4±0,5	65,2	30.5
T _{max} (horas)	8 - 12	6 - 12	12	6
AUC (µg – h / ml)	7159±1103	164.3 ± 79,3	4708	758
T ½ (horas)	40,4 ± 4,7	41,7 ± 11,8	46,8	14,3.

Tabla 4: Concentraciones en plasma de ácido halofénico (-) (ácido -) y ácido halofénico (+) (ácido +) después de una sola dosis de halofenato (-).

Tiempo (hora)	Compuesto Analizado (µg / ml)					
	Ácido -			Ácido +		
	Rata 8	Rata 9	Rata 11	Rata 8	Rata 9	Rata 11

0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
1	81,2	23,7	61,0	1,12	BQL	BQL
2	100,1	30,4	87,8	1,27	BQL	1,09
4	122,3	36,9	94,5	1,67	BQL	1,95
6	128,3	56,5	116,3	2,96	BQL	1,73
8	128,2	79,0	127,8	2,58	BQL	1,06
12	135,3	80,6	104,8	2,85	2,23	2,08
24	82,5	73,1	66,5	2,22	1,29	1,86
48	56,2	44,5	47,1	1,64	1,03	1,14
72	39,7	37,4	30,8	1,25	BQL	BQL
96	31,1	N / A	24,6	BQL	N / A	BQL
o120	20,3	N / A	N / A	BQL	N / A	N / A

BQL = por debajo del límite cuantificable < 1,00 µg / ml

N / A = Muestra no disponible

Ejemplo 15

Este ejemplo se refiere a la prevención del desarrollo de diabetes y a la mitigación de hipertrigliceridemia mediante halofenato (-).

A. Materiales y Métodos

Se adquirieron ratones macho C57BL / 6J db / db de 4 semanas de edad de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Los animales se alojaron (5 ratones / jaula) bajo condiciones de laboratorio estándar a 22 ± 3 °C y a 50 ± 20 % de humedad relativa, y se mantuvieron con una dieta en polvo consistente en alimento para roedores Purina (n° 8640) y agua a voluntad. Antes del tratamiento, se extrajo sangre de cada animal de la vena de la cola para determinar las concentraciones de glucosa, insulina y triglicéridos en plasma. Los ratones se distribuyeron de manera que la media de los niveles de glucosa y el peso corporal fueran equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. El grupo control (20 ratones) fue sometido a una dieta de alimento en polvo mezclado con 5 % de sacarosa y el grupo tratado (20 ratones) fue sometido a una dieta de alimento en polvo mezclado con 5 % de sacarosa y halofenato (-). La cantidad de halofenato (-) de la mezcla se ajustó constantemente de acuerdo al

64

peso corporal del animal y a la ingesta de comida, para poder alcanzar la dosis objetivo de 150 mg / kg / día. Se obtuvieron muestras de sangre a 8 – 10 a.m., una vez por semana durante 9 semanas sin condiciones de ayuno. La ingesta de alimento y el peso corporal se midieron cada 1 – 3 días. Las concentraciones en plasma de glucosa y triglicéridos se determinaron colorimétricamente usando kits de Sigma Chemical Co (N° 315 y N° 339, St. Louis, MO, USA). Los niveles de insulina en plasma se midieron usando kits de ensayo RIA adquiridos de Linco Research (St. Charle,; MO). Las diferencias significativas entre grupos (comparando los grupos tratados con droga con los tratados con vehículo) se evaluaron usando el test t de Student no apareado.

B. Resultados

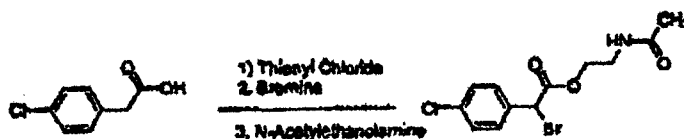
Los ratones C57BL / 6J db / db de 4 semanas de edad estaban en estado pre diabético. Sus concentraciones de glucosa en plasma eran normales pero las concentraciones de insulina estaban significativamente elevadas. Como se ilustra en la Figura 13, las concentraciones de glucosa en plasma en ambos grupos eran normales al comienzo del experimento. Siguiendo el curso natural del desarrollo de diabetes, los niveles de glucosa en plasma en el grupo control aumentaron progresivamente a medida que los animales envejecían, mientras que los niveles de glucosa en plasma en el grupo tratado con halofenato (-) los previno o los demoró significativamente. Como se ve en la Figura 15, alrededor del 30 % de los ratones no desarrollaron diabetes en el grupo tratado con halofenato (-), definiendo la diabetes en razón a niveles de glucosa en plasma >250 mg / dl. Por otro lado, ninguno de los ratones del grupo control estaba libre de diabetes al alcanzar las 10 semanas. Consistentemente con los hallazgos de glucosa en plasma, la insulina en plasma en el grupo control decreció progresivamente, indicando deterioro de la capacidad del páncreas para segregar insulina. El tratamiento con halofenato (-) mantenía las concentraciones de insulina en plasma, indicando prevención en cuanto al deterioro de la función pancreática (Figura 14).

La Figura 16 muestra la progresión de las concentraciones de triglicéridos en plasma en función de la edad en ratones C57BL / 6J db / db. La administración de halofenato (-) mitigó el aumento en las concentraciones de triglicéridos en plasma a lo largo del experimento.

Ejemplo 16

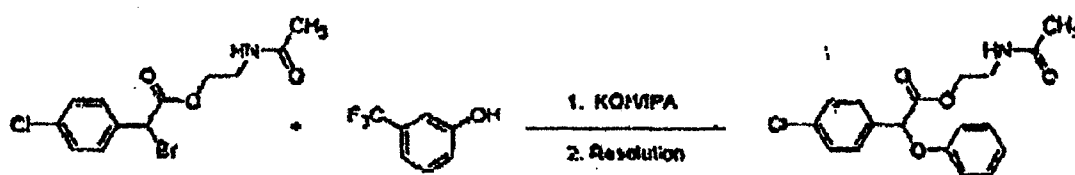
Este ejemplo describe la preparación de 2 - acetamidoetil 4 - clorofenil - (3 - trifloro metilfenoxi) - acetato (halofenato(-)).

El ácido
acético se
dicloroetano y
resultante se



4 - clorofenil
combinó con 1, 2
la solución
calentó a 45 °C.

Se agregó cloruro de tionilo a la mezcla de reacción, que se calentó a 60 °C durante 18 hs. Se dejó que la reacción enfriara hasta alcanzar temperatura ambiente y a continuación se agregó lentamente a una solución de N - acetiletanolamina en diclorometano. Después de agitar durante 30 min, la reacción se detuvo con carbonato de potasio y tiosulfato de sodio. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio y se filtró. La eliminación del solvente mediante evaporación por rotación suministró N - acetilaminoetil 2 - bromo - 2 - (4 - clorofenil) acetato, como un aceite.



Se agregó 3 - hidroxibenzotrifloruro a una solución de hidróxido de potasio en isopropanol. Se agregó N - acetilaminoetilo 2 - bromo - 2 - (4 - clorofenil) acetato e isopropanol a una solución de isopropanol / fenóxido y se agitó a temperatura ambiente durante 4 hs. El isopropanol se eliminó mediante destilación al vacío y la lechada resultante se disolvió en acetato de etilo y se lavó dos veces con agua y una vez con salmuera. Después de secar sobre sulfato de magnesio y de filtrar, el solvente se eliminó para obtener un producto crudo en forma de aceite. El producto crudo se disolvió en tolueno / hexanos (1 : 1 v / v) caliente y se enfrió a una temperatura comprendida entre 0 y 10 °C para cristalizar el producto. La torta de filtrado se lavó con hexanos / tolueno (1 : 1 v / v) y a continuación se secó bajo vacío a 50 °C. El sólido aislado se disolvió en isopropanol en hexanos 1 : 6 (p / p) caliente. Después de enfriar,

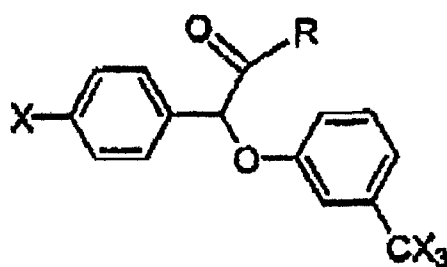
se formó el 2 - acetaimidoetilo 4 - clorofenil - (3 - trifluoro metilfenoxi) acetato como un sólido cristalino. Éste sólido se recogió mediante filtración, se lavó la torta de filtrado con isopropanol en hexanos 1 : 6 (v / v) y se secó bajo vacío a 50 °C.

El compuesto racémico se disolvió en una solución de isopropanol 20 % (IPA) y hexano 80 % a 2,5 % (v / v). La solución resultante se paso por una fase estacionaria quiral R, OR (CSP) de manera continua hasta que el 98 % del extracto ee pudiera ser eliminado. El solvente se evaporó del extracto bajo presión reducida para obtener 2 - acetamidoetil 4 - clorofenil - (3 - trifluoro metilfenoxi) acetato (-). (la resolución en Lecho Móvil Simulado se llevó a cabo mediante Universal Pharm Technologies LLC of 70 Flagship Drive, North Andover, MA 01845.)

Aunque la invención anterior se ha descrito en detalle con propósitos de esclarecimiento y de comprensión, es obvio que pueden realizarse modificaciones que estén comprendidas dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Todas las publicaciones y los documentos de patentes citados en la presente están incorporados en la presente por referencia en su totalidad para todos los propósitos, ende la misma manera que si cada una de ellas fuera descripta individualmente.

REIVINDICACIONES

1. Un método para modular la diabetes tipo 2 en un mamífero CARACTERIZADO PORQUE comprende: administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de Fórmula I,



(I)

en el cual

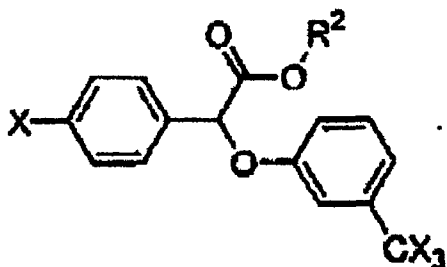
R es un miembro seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, aralcoxilo inferior, di - alquilamino inferior - alcoxilo inferior, alcanamido inferior alcoxilo inferior, benzamido - alcoxilo inferior, ureido - alcoxilo inferior, N' - alquilo inferior - ureido - alcoxilo inferior, carbamilo - alcoxilo inferior, alcoxilo inferior sustituido con halofenoxilo, fenoxilo sustituido con carbamilo, carbonilo - alquilamino inferior, N, N - di - alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxilo inferior, ureido y alcoxycarbonilamino inferior, y

X es un halógeno, o

una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico,

en la cual el compuesto está sustancialmente libre de su estereoisómero (+).

2. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto es un compuesto de fórmula II,



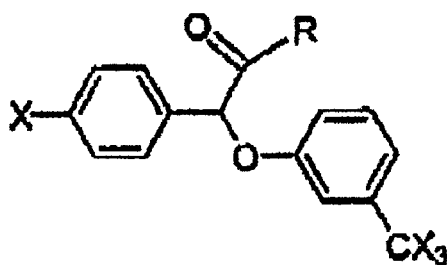
(II)

en el cual

R^2 es un miembro seleccionado del grupo que consiste en fenilo - alquilo inferior, alcanamido inferior - alquilo inferior y benzamido - alquilo inferior.

3. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto es acetato de (-) 2- acetamidoetil 4- clorofenil (3- triflorometilfenoxilo).
4. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra por infusión intravenosa, por administración transdérmica o por administración oral.
5. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 100 mg a alrededor de 3000 mg por día.
6. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 500 mg a alrededor de 1500 mg por día.
7. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 5 a alrededor de 250 mg por kg por día.
8. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra junto con un vehículo aceptable para el uso farmacéutico.
9. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula la hiperglucemia reduciendo los niveles de glucosa en sangre en el mamífero.
10. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula la hemoglobina A_{1c} en el mamífero.
11. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula una complicación microvascular y macrovascular asociada con la diabetes.
12. El método de la reivindicación 11 CARACTERIZADO PORQUE la complicación microvascular es retinopatía, neuropatía o nefropatía.
13. El método de la reivindicación 11 CARACTERIZADO PORQUE la complicación microvascular es una enfermedad cardiovascular o una enfermedad vascular periférica.
14. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula la arteriosclerosis.

15. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto previene el desarrollo de la diabetes en un mamífero.
16. El método de la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra en combinación con un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: una sulfonilurea u otra droga generadora de secreción de insulina, una tiazolindiona, un fibrato, un inhibidor de la HMG CoA reductasa, una biguanida, una resina que une ácidos biliares, un inhibidor de la α - glucosidasa e insulina.
17. Un método para modular la resistencia a la insulina en un mamífero CARACTERIZADO PORQUE comprende: administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de Fórmula I,



(I)

en el cual

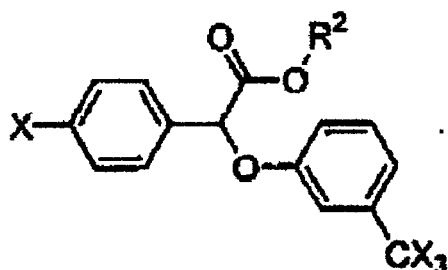
R es un miembro seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, aralcoxilo inferior, di - alquilamino inferior - alcoxilo inferior, alcanamido inferior alcoxilo inferior, benzamido - alcoxilo inferior, ureido - alcoxilo inferior, N' - alquilo inferior - ureido - alcoxilo inferior, carbamilo - alcoxilo inferior, alcoxilo inferior sustituido con halofenoxilo, fenoxilo sustituido con carbamilo, carbonilo - alquilamino inferior, N, N - di - alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxilo inferior, ureido y alcóxicarbonilamino inferior, y

X es un halógeno, o

una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico,

en la cual el compuesto está sustancialmente libre de su estereoisómero (+).

1. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto es un compuesto de fórmula II,



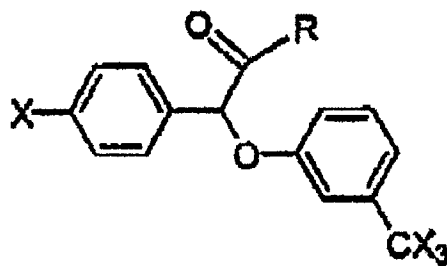
(II)

en el cual

R^2 es un miembro seleccionado del grupo que consiste en fenilo - alquilo inferior, alcanamido inferior - alquilo inferior y benzamido - alquilo inferior.

2. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto es acetato de (-) 2- acetamidoetil 4- clorofenil (3- triflorometilfenoxilo).
3. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra por infusión intravenosa, por administración transdérmica o por administración oral.
4. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 100 mg a alrededor de 3000 mg por día.
5. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 500 mg a alrededor de 1500 mg por día.
6. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 5 a alrededor de 250 mg por kg por día.
7. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra junto con un vehículo aceptable para el uso farmacéutico.
8. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto evita el desarrollo de resistencia a insulina en un mamífero.
9. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula el síndrome de ovarios policísticos.
10. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula la Tolerancia Disminuida a la Glucosa.
11. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula la obesidad.

12. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula la diabetes gestacional. ²⁹
13. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula el Síndrome X. ³⁰
14. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto modula la arteriosclerosis. ³¹
15. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra en combinación con un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: una sulfonilurea u otra droga generadora de secreción de insulina, una tiazolindiona, un fibrato, un inhibidor de la HMG CoA reductasa, una biguanida, una resina que une ácidos biliares, un inhibidor de la α - glucosidasa e insulina. ³²
16. Un método para aliviar la hiperlipidemia en un mamífero CARACTERIZADO PORQUE comprende: administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de Fórmula I, ³³



(I)

en el cual

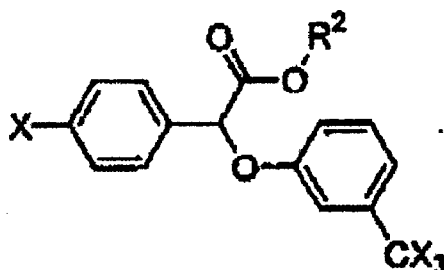
R es un miembro seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, aralcoxilo inferior, di - alquilamino inferior - alcoxilo inferior, alcanamido inferior alcoxilo inferior, benzamido - alcoxilo inferior, ureido - alcoxilo inferior, N' - alquilo inferior - ureido - alcoxilo inferior, carbamilo - alcoxilo inferior, alcoxilo inferior sustituido con halofenoxilo, fenoxilo sustituido con carbamilo, carbonilo - alquilamino inferior, N, N - di - alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxilo inferior, ureido y alcoxycarbonilamino inferior, y

X es un halógeno, o

una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico,

en la cual el compuesto está sustancialmente libre de su estereoisómero (+).

17. El método de la reivindicación 33 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto es un compuesto de fórmula II,



(II)

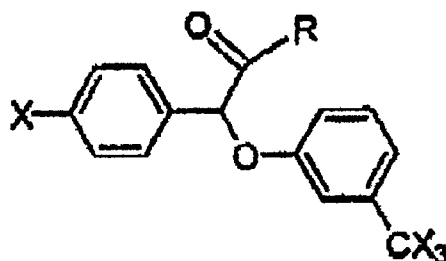
en el cual

R^2 es un miembro seleccionado del grupo que consiste en fenilo - alquilo inferior, alcanamido inferior - alquilo inferior y benzamido - alquilo inferior.

18. El método de la reivindicación 33 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto es acetato de (-) 2- acetamidoetil 4- clorofenil (3- triflorometilfenoxilo).³⁵
19. El método de la reivindicación 33 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra por infusión intravenosa, por administración transdérmica o por administración oral.³⁶
20. El método de la reivindicación 33 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto disminuye los niveles de colesterol, los niveles de triglicéridos o ambos.³⁷
21. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 100 mg a alrededor de 3000 mg por día.³⁸
22. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 500 mg a alrededor de 1500 mg por día.³⁹
23. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE la cantidad administrada es de alrededor de 5 a alrededor de 250 mg por kg por día.⁴⁰
24. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra junto con un vehículo aceptable para el uso farmacéutico.⁴¹
25. El método de la reivindicación 17 CARACTERIZADO PORQUE el compuesto se administra en combinación con un compuesto seleccionado del grupo que consiste en: una sulfonilurea u otra droga generadora de secreción de insulina, una

tiazolindiona, un fibrato, un inhibidor de la HMG CoA reductasa, una biguanida, una resina que une ácidos biliares, un inhibidor de la α - glucosidasa e insulina. 42

26. Una composición farmacéutica CARACTERIZADA PORQUE comprende un vehículo aceptable para el uso farmacéutico y una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de Fórmula I,



(I)

en el cual

R es un miembro seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, aralcoxilo inferior, di - alquilamino inferior - alcoxilo inferior, alcanamido inferior alcoxilo inferior, benzamido - alcoxilo inferior, ureido - alcoxilo inferior, N' - alquilo inferior - ureido - alcoxilo inferior, carbamilo - alcoxilo inferior, alcoxilo inferior sustituido con halofenoxilo, fenoxilo sustituido con carbamilo, carbonilo - alquilamino inferior, N, N - di - alquilamino inferior, alquilamino inferior sustituido con halógeno, alquilamino inferior sustituido con hidroxilo, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxilo inferior, ureido y alcoxycarbonilamino inferior, y

X es un halógeno, o

una sal del mismo aceptable para el uso farmacéutico,

en la cual el compuesto está sustancialmente libre de su estereoisómero (+). 43

27. La composición farmacéutica de la reivindicación 43 CARACTERIZADA PORQUE

la composición farmacéutica modula la diabetes tipo 2. 44

28. La composición farmacéutica de la reivindicación 43 CARACTERIZADA PORQUE

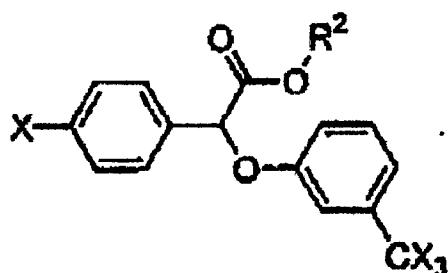
la composición farmacéutica modula la resistencia a la insulina. 45

29. La composición farmacéutica de la reivindicación 43 CARACTERIZADA PORQUE

la composición farmacéutica modula la hiperlipidemia. 46

30. La composición farmacéutica de la reivindicación 43 CARACTERIZADA PORQUE

comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula II, 47



(II)

en el cual

R² es un miembro seleccionado del grupo que consiste en fenilo - alquilo inferior, alcanamido inferior - alquilo inferior y benzamido - alquilo inferior.

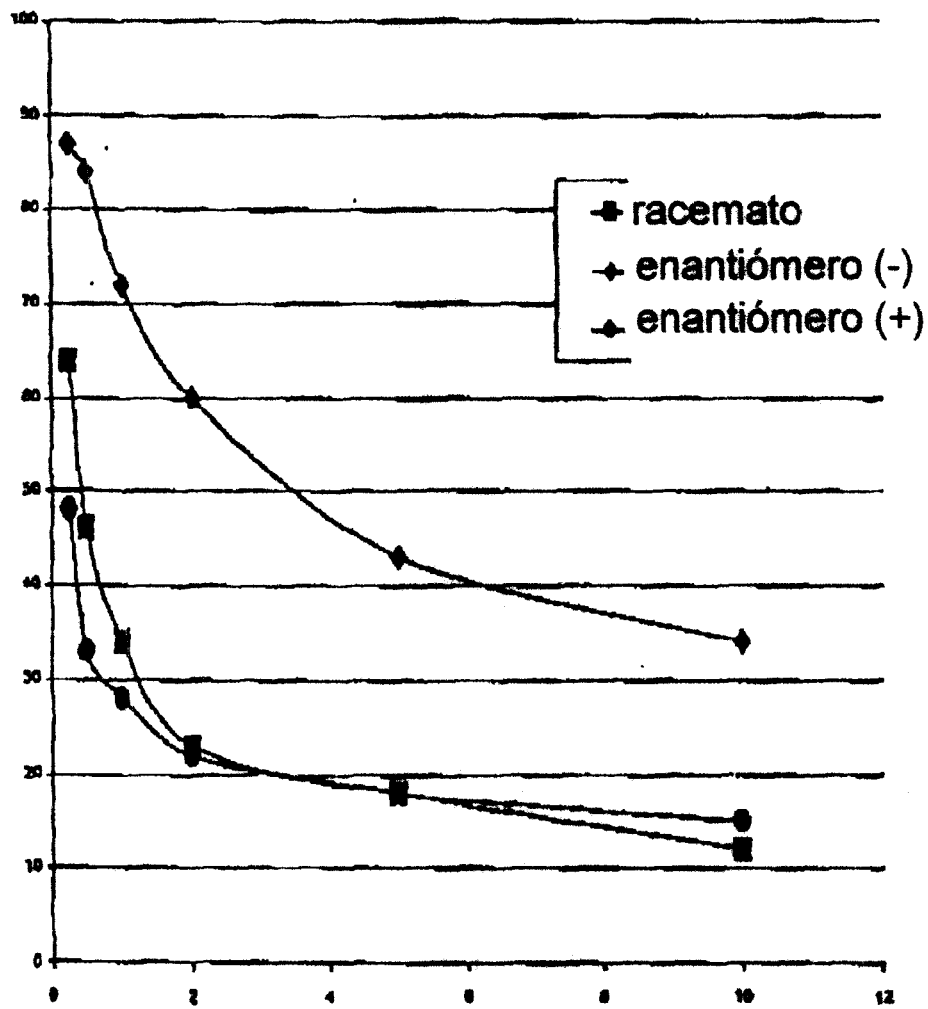
31. La composición farmacéutica de la reivindicación 43 CARACTERIZADA PORQUE el compuesto es acetato de (-) 2- acetamidoetil 4- clorofenil (3- triflorometilfenoxilo).
32. La composición farmacéutica de la reivindicación 43 CARACTERIZADA PORQUE toma la forma de una tableta o de una cápsula.

**NUEVAS COMPOSICIONES DERIVADAS DE ACIDO (-) (3- TRIHALOMETILFENOXI)
(4- HALOFENIL) ACÉTICOS Y METODOS PARA EL TRATAMIENTO DE
RESISTENCIA A LA INSULINA, DIABETES TIPO 2, E HIPERLIPIDEMIA**

RESUMEN

La presente invención provee el uso de derivados y composiciones de ácido (-) (3- trihalometoxi) (4- halofenil) acético en el tratamiento de la resistencia a la insulina, de la diabetes tipo 2 y de la hiperlipidemia.

% de actividad control CYP2C9



Concentración de ácido halofénico (uM)

Figura 1

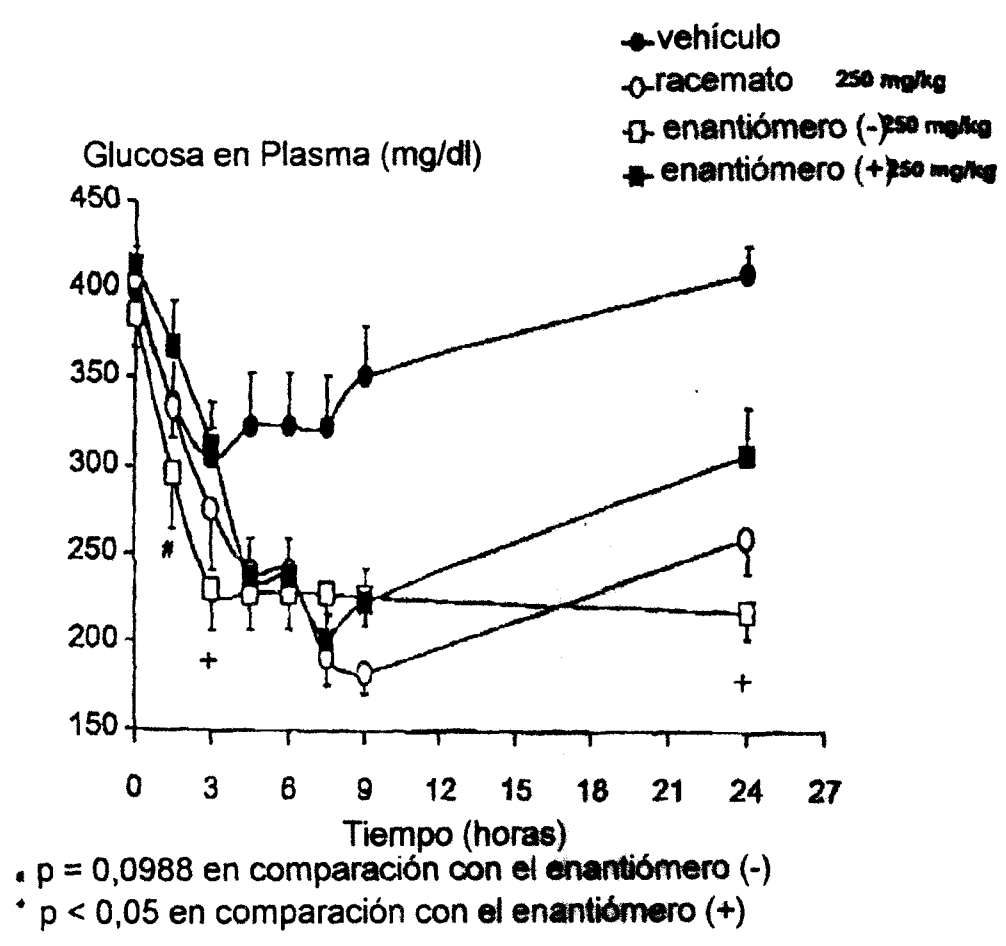


Figura 2

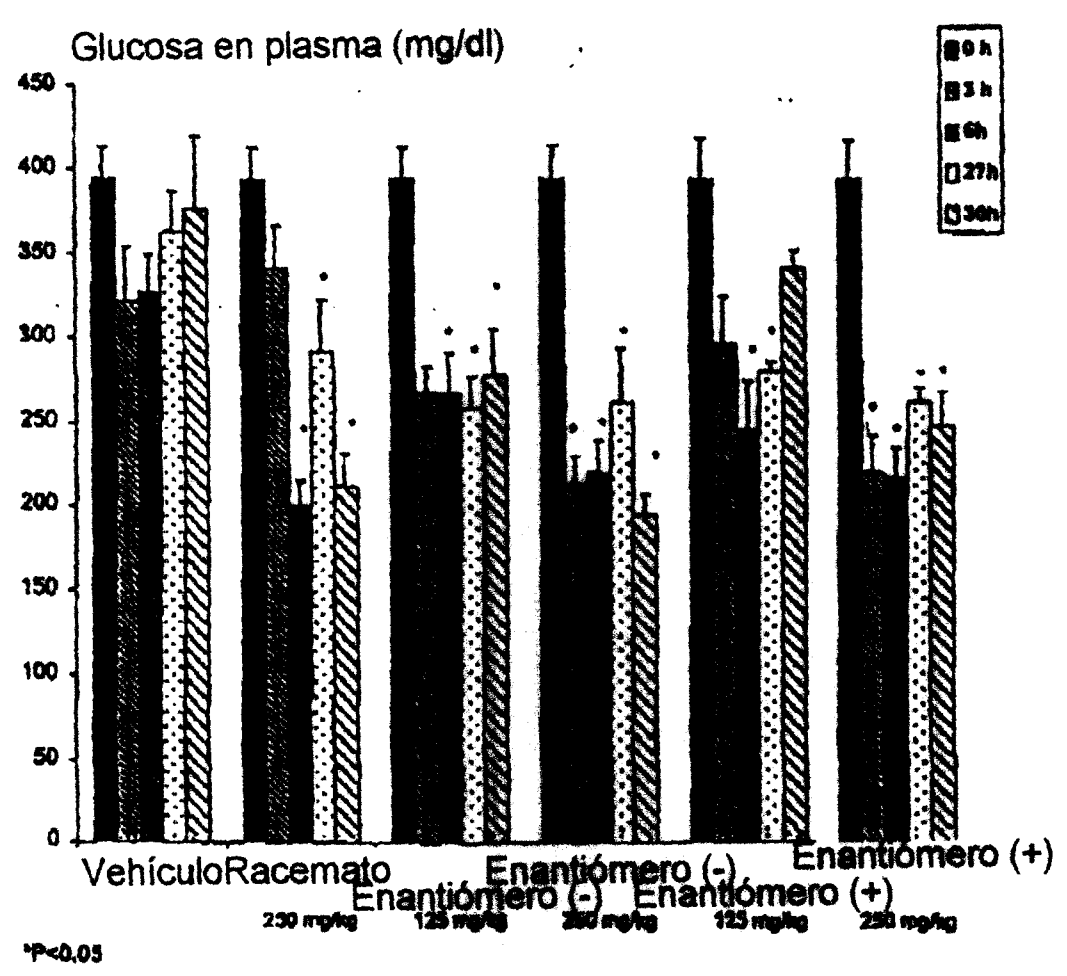


Figura 3

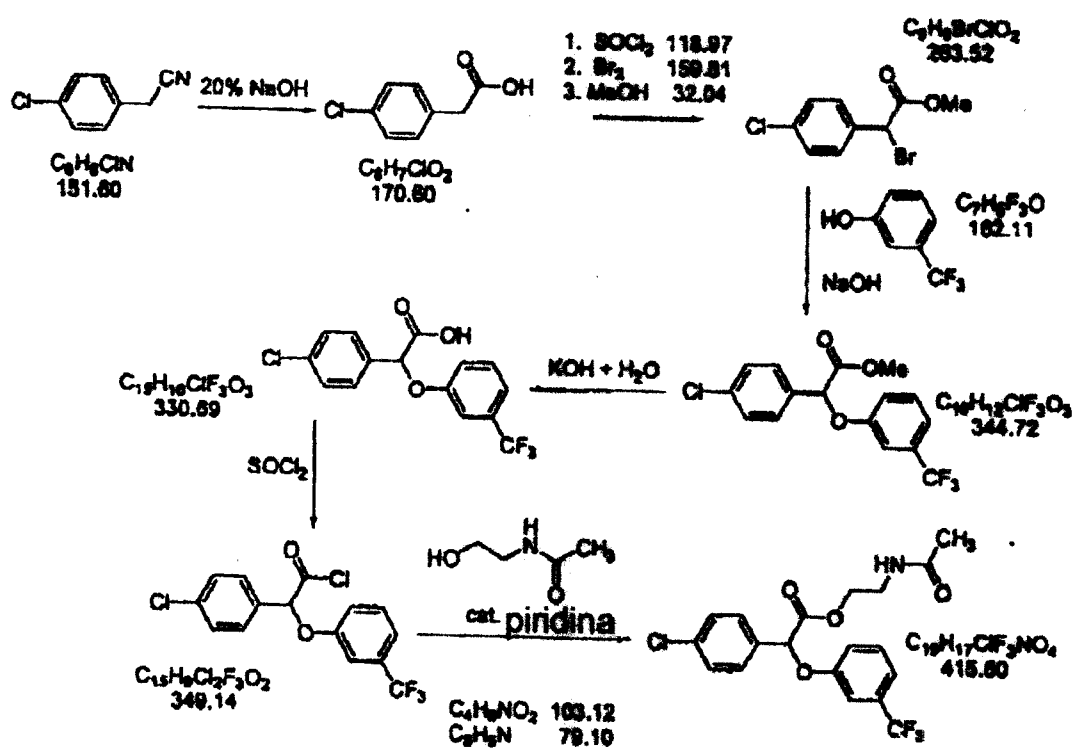


Figura 4

Cosa en plasma (mg/dl)

120h

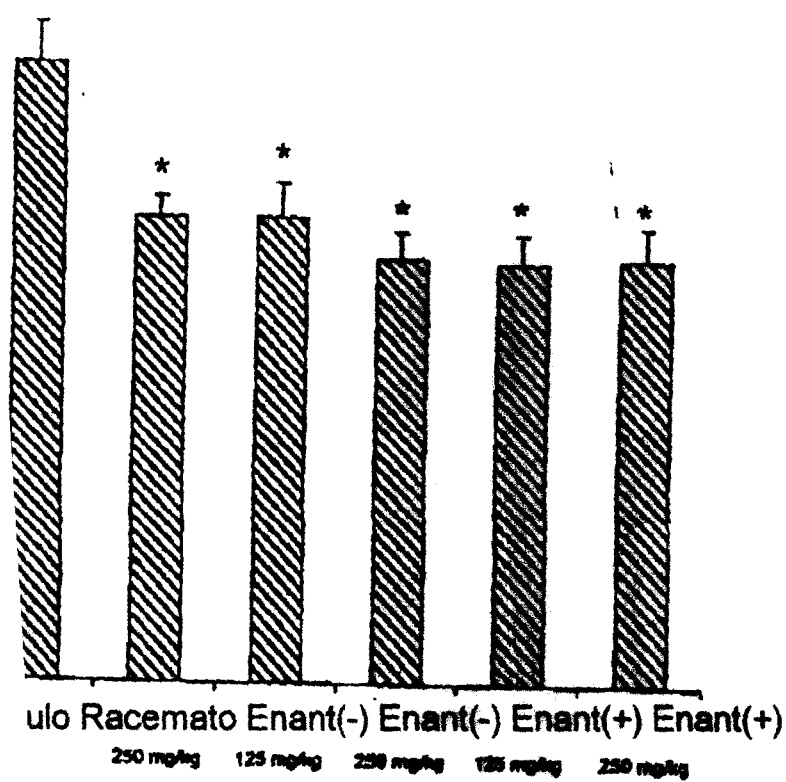


Figura 5

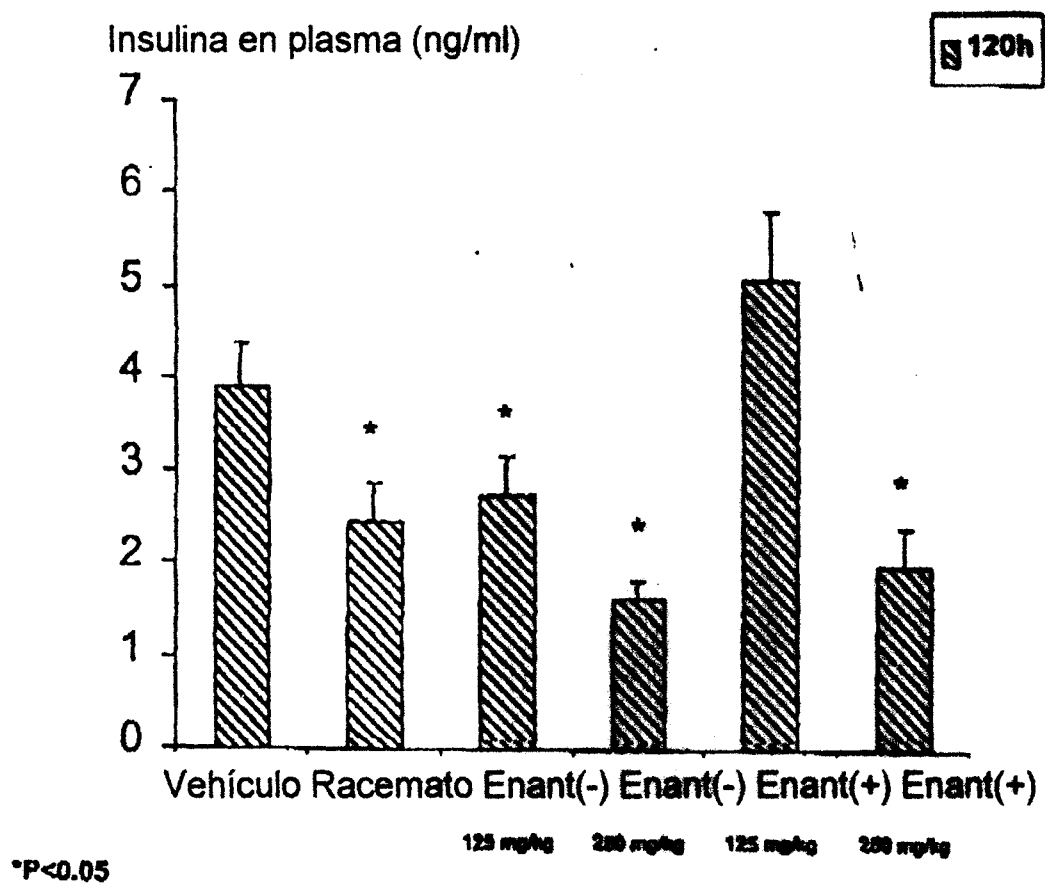


Figura 6

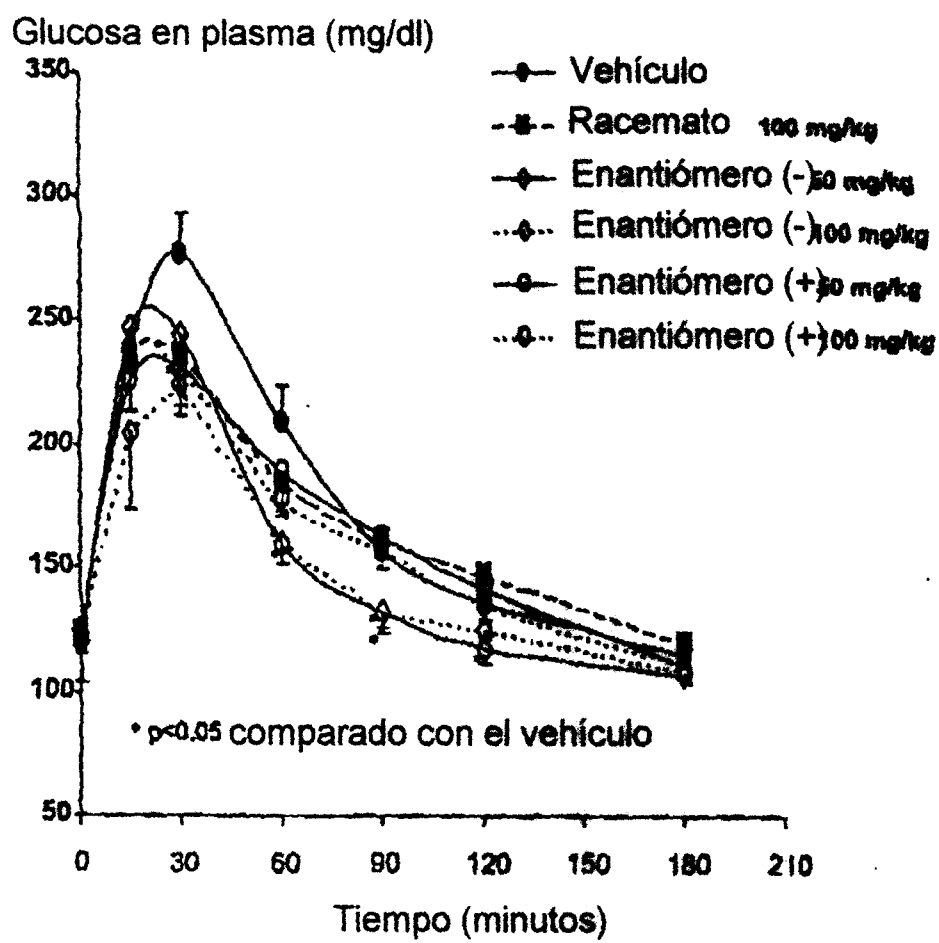


Figura 7A

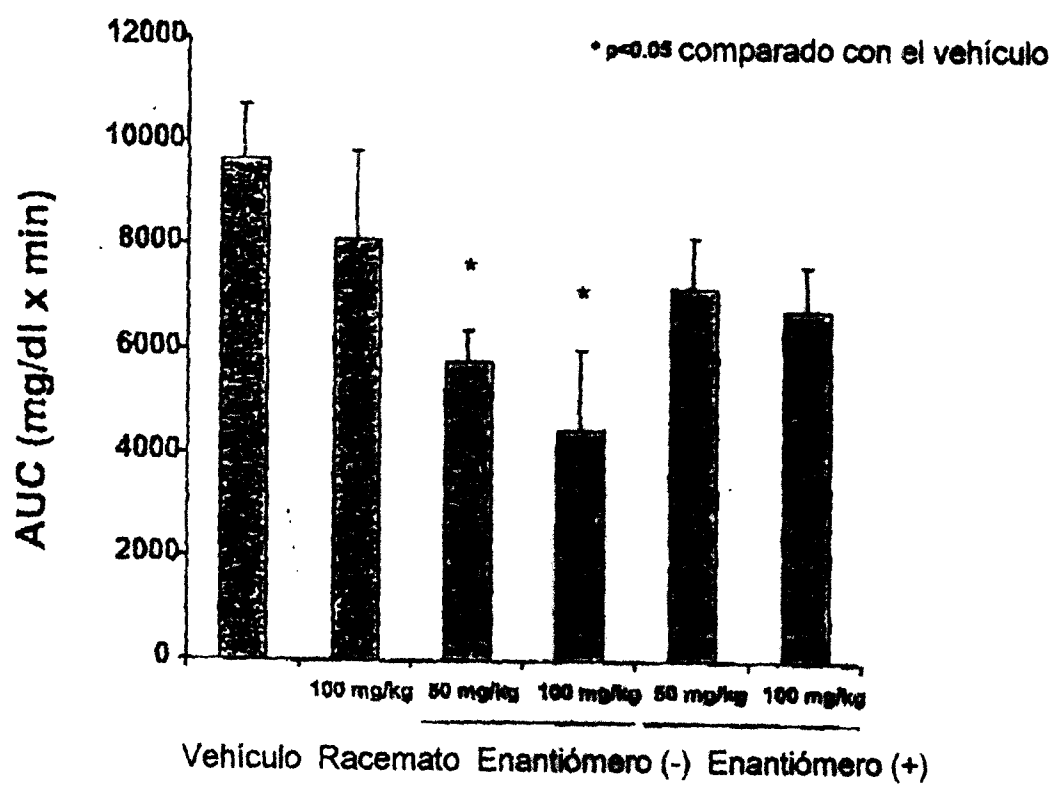


Figura 7B

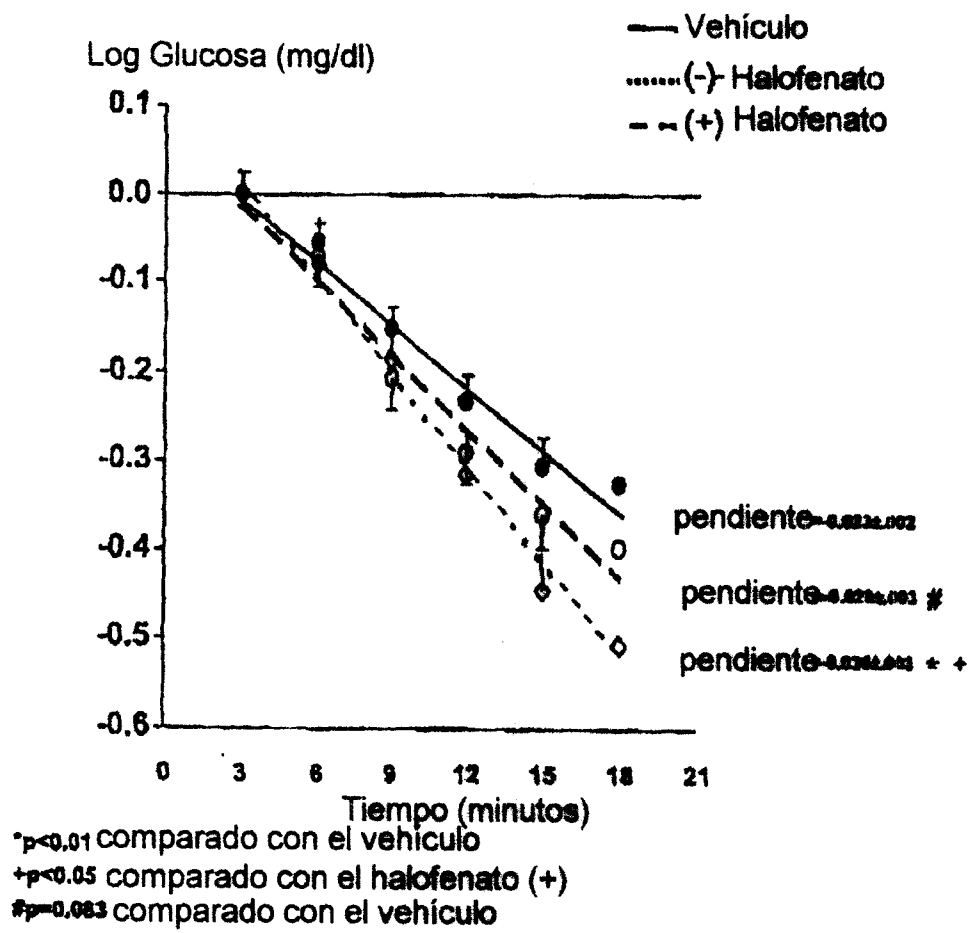


Figura 8

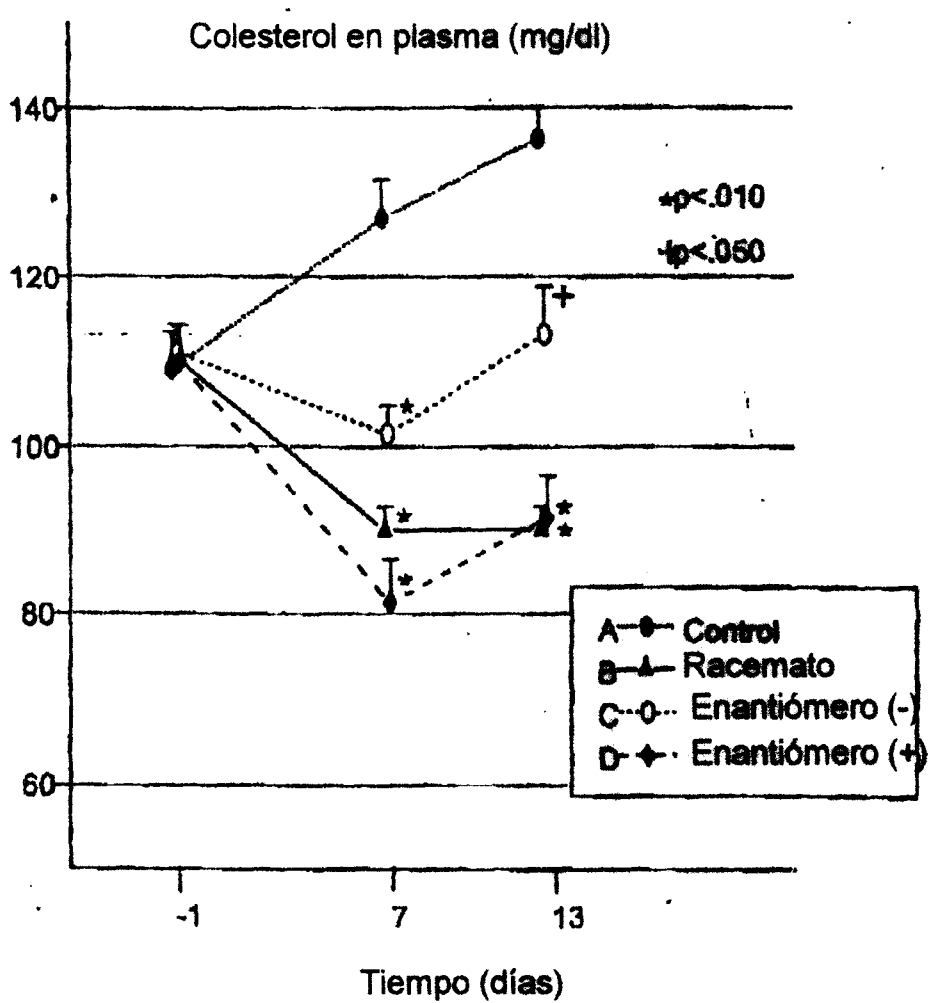


Figura 9A

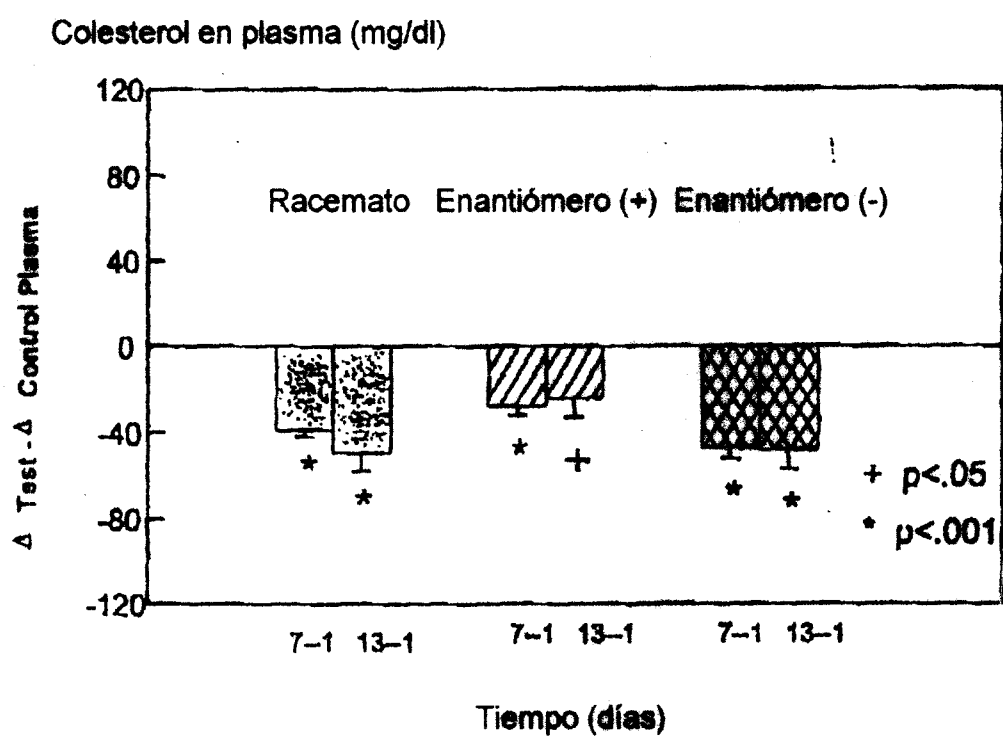


Figura 9B

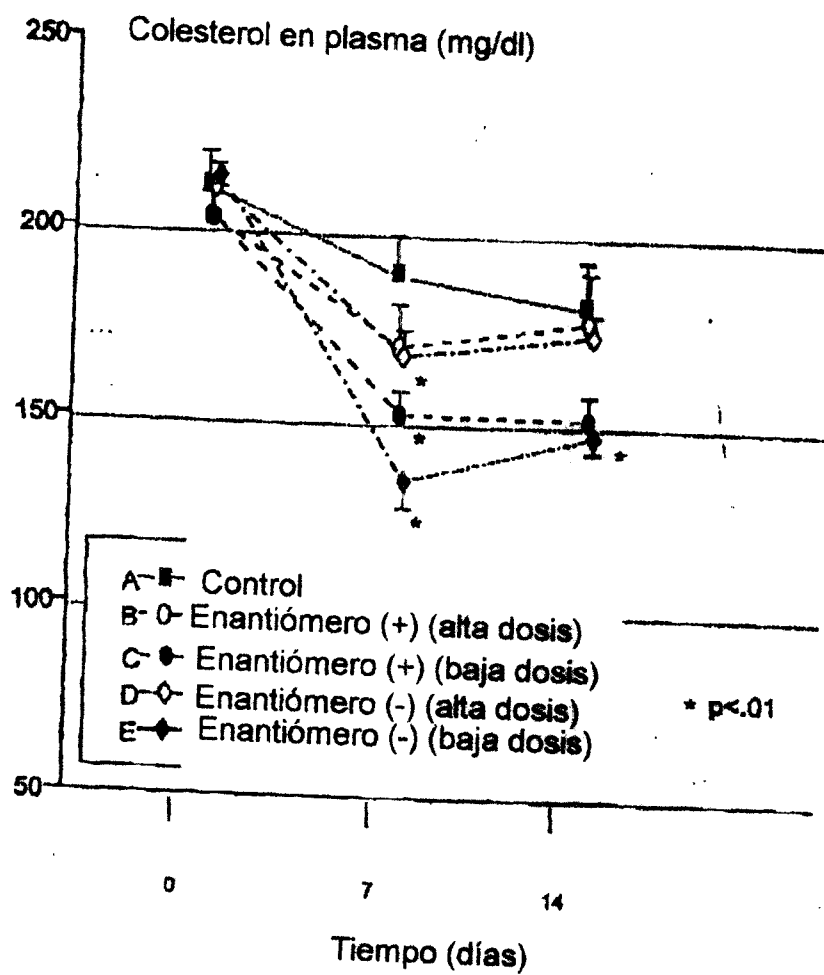


Figura 10A

Cambio en el colesterol (mg/dl)

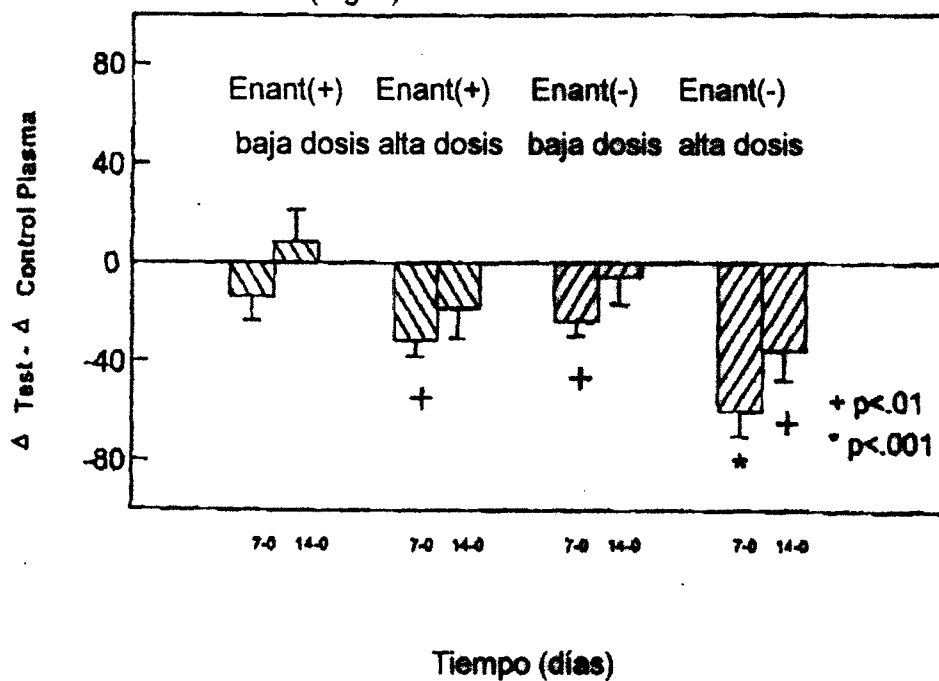


Figura 10B

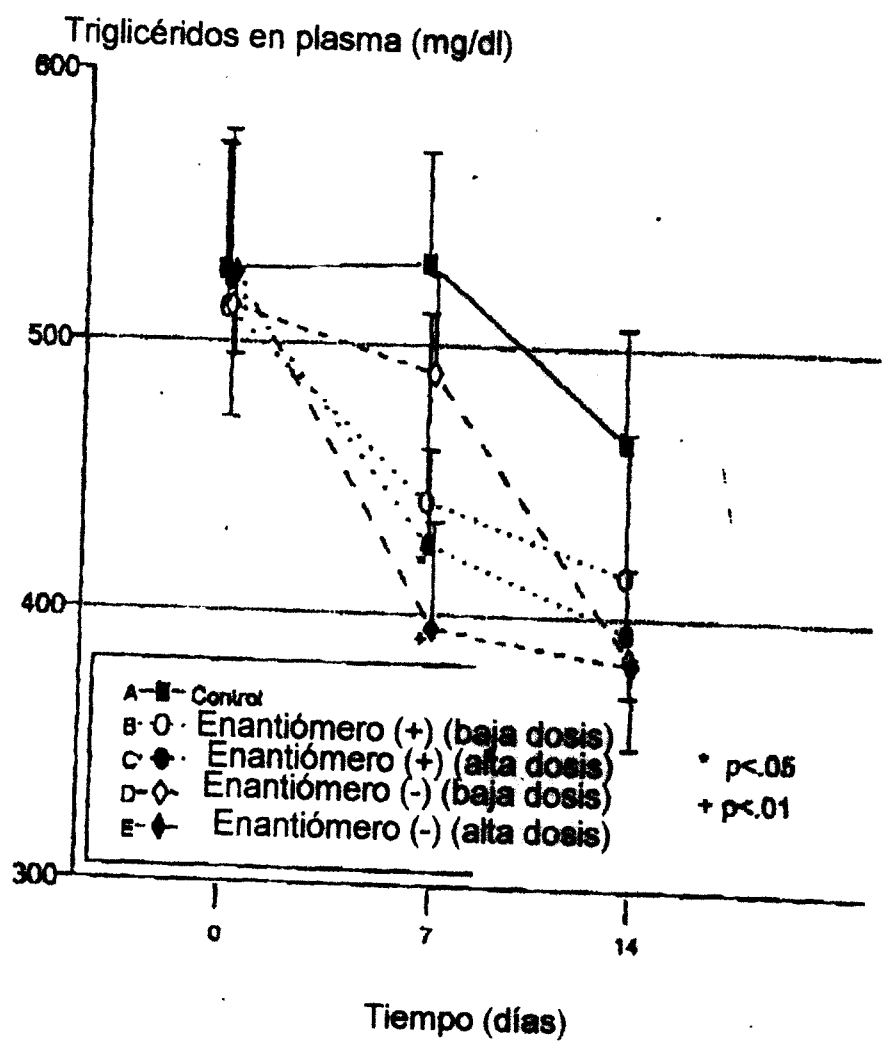


Figura 11A

Cambio en los triglicéridos (mg/dl)

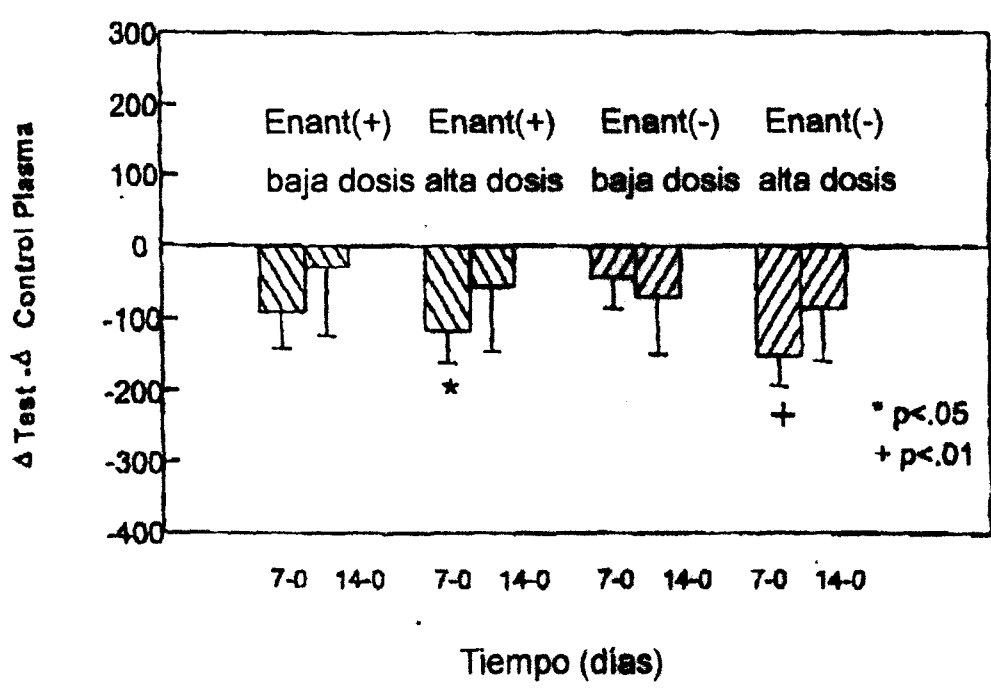


Figura 11B

Glucosa en plasma (mg/dl)

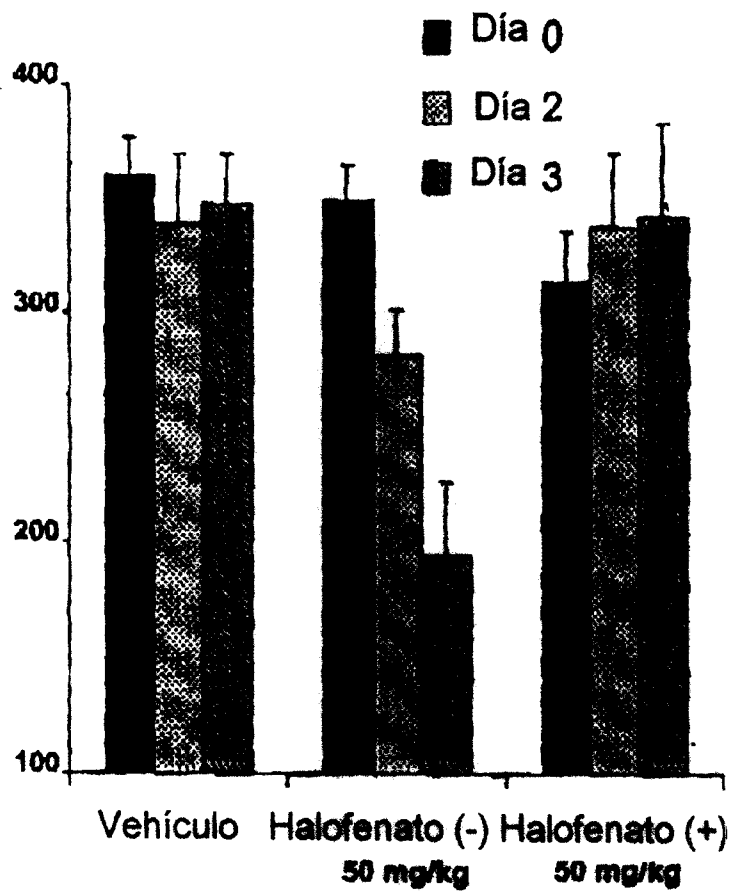


Figura 12

Figura 13

Glucosa en plasma (mg/dl)

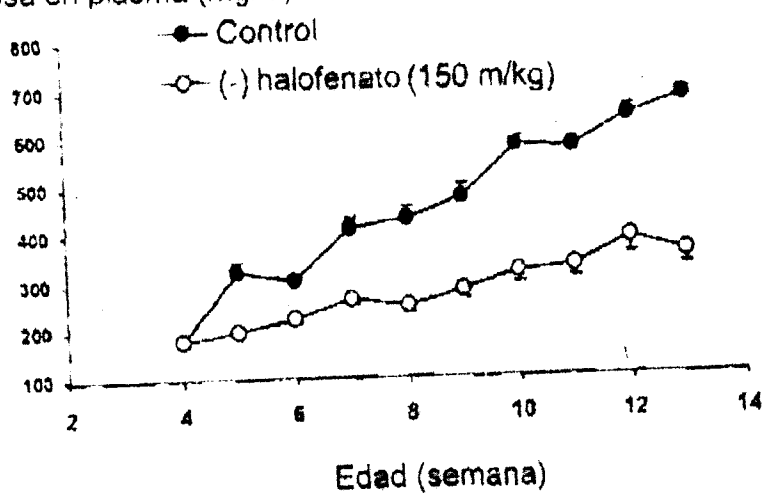


Figura 14

Insulina en plasma (ng/ml)

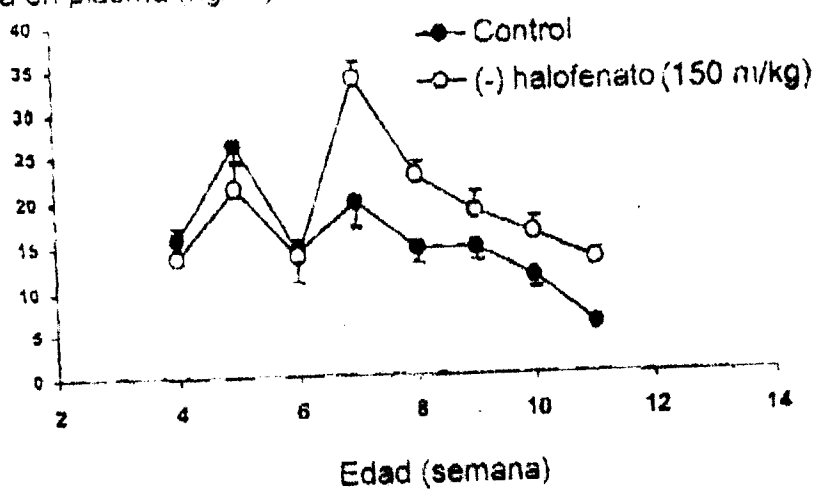


Figura 15

% de ratones no diabéticos

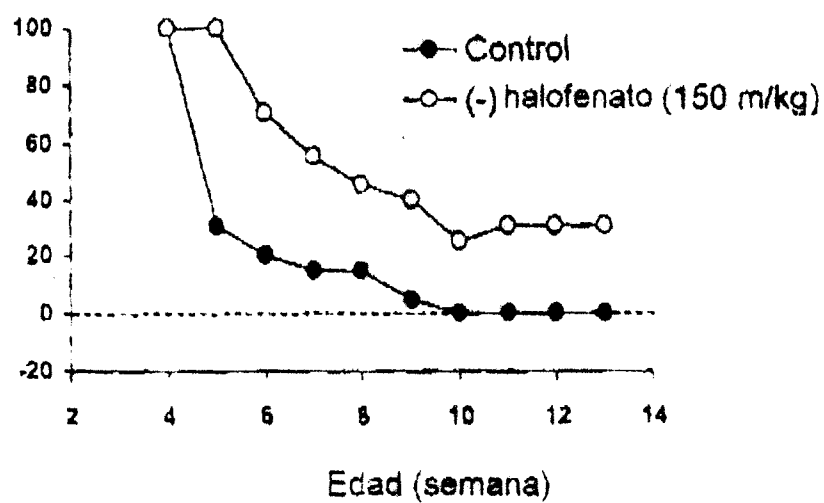
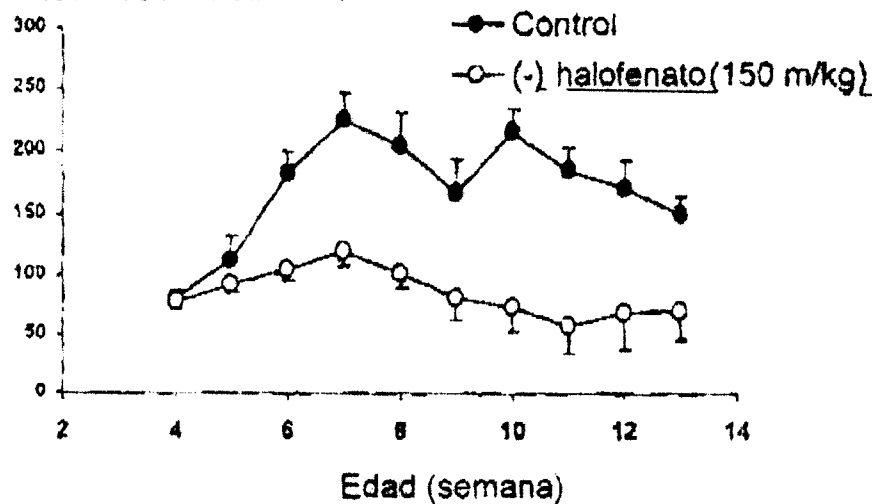


Figura 16

% de ratones no diabéticos



99/

**EXTRACTO PARA PUBLICACION
SOLICITUD DE PATENTE**

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

(21) No. Solicitud	(51) Int. Cl
(22) Fecha de presentación	(71) Solicitante: METABOLEX, INC. DIATEX, INC.
(30) Prioridad SI	(72) Inventor (es) : 1) KENNETH L. LUSKEY, M.D. 2) JIAN LUO, M.D.
(31) No. de solicitud: 09/325,997	
(32) Fecha de presentación: JUNIO 4, 1999	
(33) País: ESTADOS UNIDOS	(74) Apoderado: DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN
(54) Título: NUEVAS COMPOSICIONES DERIVADAS DE ÁCIDO (-)(3-TRIHALOMETILFENOXI)(4-HALOFENIL) ACÉTICOS Y MÉTODO PARA EL TRATAMIENTO DE RESISTENCIA A LA INSULINA, DIABETES TIPO 2, E HIPERLIPIDEMIA	

(57)

La presente invención provee el uso de derivados y composiciones de ácido (-) (3-trihalometoxi) (4-halofenil) acético en el tratamiento de la resistencia a la insulina, de la diabetes tipo 2 y de la hiperlipidemia.

id: extpa341

FORMATO DE DIGITALIZACION
RELACION DE ANEXOS

as

Expediente No		00041901	No de Folio
Item		No de unidades	√
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA		
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO	1	
10	OTROS:		

Observaciones: Contiene Arte Final

95

96 98



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA /

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Folios: 97

Radicacion : 00041901 00000000

Fecha (AMD): 2000-06-06 16:51:16

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCION []

MODELO DE UTILIDAD []

• Nombre e identificación del Solicitante []

• Nombre e identificación del Inventor []

• Título o nombre de la Invención []

• Descripción []

• Reivindicaciones 67 []

• Resumen []

• Comprobante de Pago 2 []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

• Nombre e identificación del peticionario []

• Nombre e identificación del inventor o diseñador []

• Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse []

• Representación gráfica []

• Comprobante de pago []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha: _____

2000-0607
430

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PRIMER EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE 00-41901

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- | | | |
|--------|--------|---|
| SI [] | NO [X] | NO APLICABLE [] Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a). |
| SI [] | NO [X] | NO APLICABLE [] Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94). |
| SI [x] | NO [] | NO APLICABLE [] Presentó, en forma correcta, el comprobante de pago por la tasa de presentación establecida (art. 13-f de la Decisión 344 y la Resolución 002 del 4 de Enero del 2000). |
| SI [x] | NO [] | EXTEMPORANEAMENTE [] Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio de París. |
| SI [] | NO [x] | NO APLICABLE [] Presentó copia, certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, al momento de radicar la solicitud nacional. |
| SI [] | NO [x] | NO APLICABLE [] Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de París; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.). |
| SI [] | NO [x] | CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS |

OBSERVACIONES JURÍDICAS CONVENIO DE PARIS: Deberá presentar copia certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, en cualquier momento dentro del plazo de tres (3) meses, contados a partir de la fecha de depósito de la solicitud posterior. La omisión de esta formalidad implicará la pérdida del derecho de prioridad.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

- | | | |
|--------|--------|--|
| SI [] | NO [X] | Se ajusta a los aspectos FORMALES indicados en la Decisión 344 y por tanto, |
| SI [] | NO [X] | Se recomienda PUBLICAR el extracto correspondiente. |

Santafé de Bogotá, D.C., 7 de Junio del 2000

EXAMINADOR JURIDICO.

202022

1º EXAMEN DE FORMA

Radicación nº 00041901

CONCEPTO TÉCNICO Nº 1372

IPC: A61K 31/215

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- | | |
|--|--|
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c). |
| SI ☐ NO ☐ | Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980). |
| SI ☐ NO ☒ | Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual se solicita la protección mediante la patente (Art.13-d). |
| SI ☐ NO ☒ | Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94. |
| SI ☐ NO ☐ | Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94. |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94). |
| SI ☒ NO ☐ | Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94). |
| SI ☐ NO ☒ | CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS |

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☒ NO ☐ ver hoja(s) anexa(s)

Santa Fe de Bogotá, D.C., 15 de julio de 2000

202012

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
1º EXAMEN DE FORMA

CONCEPTO TÉCNICO N° 1372

EXPEDIENTE N° 00041901

IPC: A61K 31/215

- ✓ ■ -Las reivindicaciones deben ser numeradas en forma consecutiva, ya que tal como están, hay doble reivindicación 1 hasta 17.
- ✓ ■ -La reivindicación 26 no es clara porque contiene expresiones tales como "aralcarboxillo inferior, -alcoxillo inferior, alquillo inferior, alquillamino inferior, alquillamino inferior sustituido" y términos similares, los cuales son inaceptables en las reivindicaciones porque no se sabe que se quiere significar inequívocamente con esas expresiones.
- ✓ ■ -Las reivindicaciones 27 a 29, no son claras porque el encabezado no es consecuente con el resto de la reivindicación, una composición se caracteriza por sus elementos constitutivos, no por la cantidad que se le da a un paciente, o por su posterior efecto terapéutico.
- ✓ ■ -Se debe adjuntar los artes finales de la estructura química principal.

Santa Fe de Bogotá DC, 15 de agosto de 2000

202012

2000-08-24
430

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

EXPEDIENTE 00-41901

AUTO 2011

DISPONE

ARTICULO PRIMERO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérsele al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complemente los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO SEGUNDO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndole que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Santafé de Bogotá D.C., a los _____

22 AGO 2000

EL JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES,


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Santafé de Bogotá D.C. 24 AGO. 2000 notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI _____ NO _____

**VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA
202022**