



Clarke, Modet & Co.

COLOMBIA
E-MAIL: clarkemodet@clarkemodet.com.co
SANTAFÉ DE BOGOTÁ, A.A. 92397

X 1915

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 00041901 - 0000003 Folios: 117
Fecha REC: 2000-11-01 16:15:45
Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO - 4 REGISTRO
Dependencia: ASES DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SEÑORES
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
MINISTERIO DE DESARROLLO ECONOMICO
L. C.

COD 008

RE.: EXPEDIENTE N°. 00041901
TITULO: NUEVAS COMPOSICIONES DERIVADAS DE ÁCIDO (-)-3-
THRIHALOMETILFENOXI(4-HALOFENIL) ACÉTICOS Y MÉTODOS
PARA EL TRATAMIENTO DE RESISTENCIA A LA INSULINA,
DIABETES TIPO 2 E HIPERLIPIDEMIA
SOLICITANTES: METABOLEX, INC.
DIATEX, INC.
FECHA SOLICITUD: JUNIO 6 DE 2.000

ASUNTO: CONTESTACIÓN AUTO

DILIA RODRÍGUEZ D'ALEMAN, en mi condición de apoderada de la sociedad
solicitante por el presente escrito doy respuesta a su auto notificado por estado de 24
de Agosto de 2.000 del cual solicité una prórroga el 4 de Octubre de 2.000,
sometiendo a su consideración los siguientes documentos y aclaraciones:

DOCUMENTOS:

1. El documento de poder de la sociedad DIATEX, INC. ya fue otorgado
notarizado y legalizado hasta por Cónsul de Colombia en su país de origen,
anexo al cual se encuentra legalizada la certificación sobre existencia y
representación legal.

Este documento debió ser enviado con carácter URGENTE, ante la
imposibilidad de llegar al país antes del 21 de Noviembre de 2.000, fecha
límite, vía facsímile desde el Consulado, al Ministerio de Relaciones de
Colombia.

2. El documento de poder de la sociedad METABOLEX INC., debidamente
legalizado hasta por Cónsul de Colombia en el país de origen.
3. Las traducciones oficiales de los poderes y la certificación expedida por el
Ministerio de Relaciones Exteriores mediante la cual reconoce al traductor
oficial.
4. La copia certificada de la prioridad junto con su traducción al español, fue
presentada el 6 de septiembre de 2.000, estando dentro del término que exige
el Convenio de París, toda vez que la solicitud fue presentada el 6 de Junio de
2.000.



Clarke, Modet & Co.

COLOMBIA

E-MAIL: clarkemodet@clarkemodet.com.co
SANTAFÉ DE BOGOTÁ, A.A. 92397

5. Nuevo texto de la invención debidamente traducido con la cual se hace frente a las objeciones citadas en el concepto técnico 1372.
6. Nuevo extracto de publicación.
7. Artes finales de la estructura química principal.

ACLARACIONES:

1. Las reivindicaciones erróneamente numeradas ya lo fueron en forma consecutiva.
2. La reivindicación 26 que se objeta por falta de claridad en razón a algunas de las expresiones utilizadas, ha sido reformada de manera satisfactoria.
3. Las reivindicaciones 27 a 29, que en realidad eran las 44 a 46, pero que no se relacionaban bien en razón al error en la numeración, se RETIRAN de la invención, para hacer frente a la objeción

En el evento que resultara alguna discrepancia de carácter técnico, manifiesto expresamente que el solicitante mantiene interés en la solicitud por lo que quedo a disposición de atender a las observaciones formales y técnicas que su Despacho requiera antes o durante el examen de fondo, evitando el archivo de la solicitud.

Señor Jefe,

DILIA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

CCR/srr

P. 341

*Consulado General de Colombia*Certificación No. 2957EL CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN HOUSTON, TEXAS,
ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA

Certifica:

Que ha tenido a la vista el certificado de Incorporación, de la compañía **DIATEX INC.** (**FILE No.1484169**), expedido por el Secretario de Estado del Estado de Texas, Estados Unidos de Norteamérica, según el cual la mencionada compañía existe, ejerce su objeto social y está legalmente constituida conforme a las leyes de Los Estados Unidos de Norteamérica.

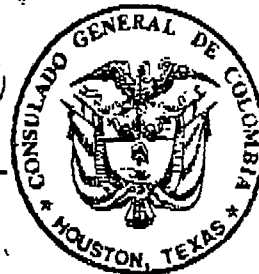
Que el Señor **SAMUEL J. FRIEDBERG, M.D.**, en calidad de **PRÉSIDENTE Y TESORERO** de dicha compañía está debidamente autorizado para otorgar el presente documento a nombre de esta compañía para los fines y propósitos allí expresados.

Se expide la presente certificación en cumplimiento de lo dispuesto en el Artículo 480 del Código de Comercio Colombiano.

El Consulado no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento.



JOSE DAVID RUEDA VISBAL
CÓNSUL DE COLOMBIA



Houston, Noviembre 16, 2000
Derechos: Ciento siete dólares (US\$107,00).

*Consulado General de Colombia*Certificación No. 2957**EL CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN HOUSTON, TEXAS,
ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMERICA****Certifica:**

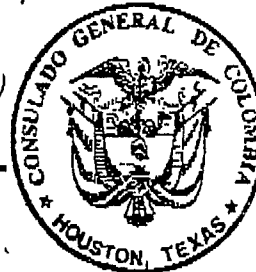
Que ha tenido a la vista el certificado de Incorporación, de la compañía **DIATEX INC.** (FILE No.1484169), expedido por el Secretario de Estado del Estado de Texas, Estados Unidos de Norteamérica, según el cual la mencionada compañía existe, ejerce su objeto social y está legalmente constituida conforme a las leyes de Los Estados Unidos de Norteamérica.

Que el Señor **SAMUEL J. FRIEDBERG, M.D.**, en calidad de **PRESIDENTE Y TESORERO** de dicha compañía está debidamente autorizado para otorgar el presente documento a nombre de esta compañía para los fines y propósitos allí expresados.

Se expide la presente certificación en cumplimiento de lo dispuesto en el Artículo 480 del Código de Comercio Colombiano.

El Consulado no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento.


JOSE DAVID RUEDA VISBAL
CÓNSUL DE COLOMBIA

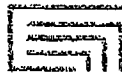


Houston, Noviembre 16, 2000

Derechos: Ciento siete dólares (US\$107,00).

016325-003700 CO

COLOMBIA



Clarke, Modet & Co. Colombia Ltda.

PROPIEDAD INDUSTRIAL y DERECHOS DE AUTOR

Apartado Aéreo 92397

Santafé de Bogotá, Colombia

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Santa Fé de Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otra en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, variedades vegetales, marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de de

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

DIATEX, INC.

legal representative(s) of

United States of America.

an organization existing under the laws of

and in present execution of its business activity, domiciled at

105 Elm Spring Lane

San Antonio, TX 98231 United States of America

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Santa Fé de Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

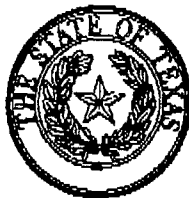
- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models, Designs, vegetal varieties, Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, extensions, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or extensions, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtention or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at

on this 2nd day of AUGUST of 2000

X DIATEX Samuel Friedberg

Firma / signature

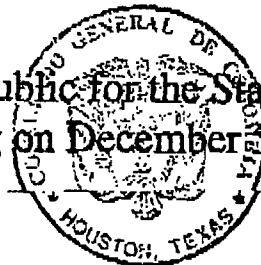


The State of Texas
Secretary of State

I, ELTON BOMER, Secretary of State of the State of Texas,
DO HEREBY CERTIFY that according to the records of this office,

S CORBETT LARKIN

qualified as a Notary Public for the State of Texas on December 5,
1996, for a term ending on December 5, 2000.



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

Houston, Texas

OCT 10 2000

No. 2635

El suscrito Cónsul General de Colombia certifica que
ELTON BOMER

quien autoriza el presente documento, ejercía en la fecha
allí expresada las funciones de
SECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE TEXAS

y que la firma y sello que en el documento aparecen como
suyos son los que usa y acostumbra a usar en sus actos
oficiales.

El Consulado no asume responsabilidad alguna sobre el
contenido del documento.

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
EN HOUSTON, TEXAS

Pagado Impuesto de Timbre	US\$ 7.00
Pagado Derecho Consular	US\$ 15.00
Total Pagado	US\$ 22.00

JOSE DAVID RUEDA VISBAL
CONSUL DE COLOMBIA



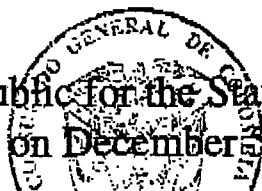
The State of Texas

Secretary of State

I, ELTON BOMER, Secretary of State of the State of Texas,
DO HEREBY CERTIFY that according to the records of this office,

S CORBETT LARKIN

qualified as a Notary Public for the State of Texas on December 5,
1996, for a term ending on December 5, 2000.



September 19, 2000

A handwritten signature of Elton Bommer in black ink.

Elton Bommer
Secretary of State

clk



198 9201

TRADUCCION OFICIAL No.896/2000.-

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, Y LLEVA EL SELLO Y LA FIRMA DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL, SEGÚN RESOLUCION No. 3618 EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA EL 6 DE SEPT.DE 1972.

TRADUCCIÓN DE LOS SELLOS QUE SE ENCUENTRAN EN EL PODER OTORGADO POR "DIATEX INC.", UNA SOCIEDAD ORGANIZADA Y EXISTENTE DE CONFORMIDAD CON LAS LEYES DEL ESTADO DE TEXAS, U.S.A., A LAS DOCTORAS DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN Y CLAUDIA LUCÍA CARO RAMÍREZ.

OTORGADO Y FIRMADO ESTE DÍA 2 DE AGOSTO DEL AÑO 2000.

FIRMADO: SAMUEL J. FRIEDBERG.

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDADES)

PODERES OTORGADOS EN: EL SALVADOR, ESTADOS UNIDOS, MEXICO
Y VENEZUELA.

A los 8 días del mes de Agosto de 2000, el Notario que suscribe DA FE de que:

1. SAMUEL J. FRIEDBEY, mayor de edad y domiciliado en SAN ANTONIO, TEXAS, U.S.A., firmó de su puño y letra el documento que antecede.
2. Conoce al otorgante y que éste está legalmente capacitado para el otorgamiento.
3. El otorgante ha firmado el referido documento en su carácter de
4. La citada persona jurídica con sede en BEXAR COUNTY, SAN ANTONIO, TEXAS, está legalmente constituida, que tiene actualmente existencia legal y que el acto para el cual se ha otorgado este poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

1991 10/20/2002

TRADUCCION OFICIAL No.896/2000.-

5. El otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, que ésta es legítima y que está facultado para otorgar este poder.
6. Las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5 me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos que para dicho propósito me fueron presentados.

FIRMADO: S. CORBETT LARKIN, NOTARIO PÚBLICO DEL ESTADO DE TEXAS CON COMISIÓN HASTA DICIEMBRE DEL AÑO 2000. HAY SELLO DEL NOTARIO.

ESTADO DE TEXAS

SECRETARIO DE ESTADO

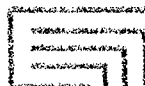
YO, ELTON BOMER, SECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE TEXAS, CERTIFICO QUE S. CORBETT LARKIN, FUE AUTORIZADO PARA EJERCER COMO NOTARIO PÚBLICO DEL ESTADO DE TEXAS EN DICIEMBRE 6, 1996 POR UN TÉRMINO QUE FINALIZA EN DICIEMBRE DEL AÑO 2000.

FIRMADO: ELTON BOMER, SECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE TEXAS. HAY SELLO DEL SECRETARIO DE ESTADO.

SIGUE AUTENTICACION DE LA FIRMA QUE PRECEDE EFECTUADA POR EL CÓNSUL GENERAL DE COLOMBIA EN HOUSTON, TEXAS, BAJO EL NO. 2635, Y AUTENTICACIÓN DE LA FIRMA DEL CÓNSUL EFECTUADA POR EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN BOGOTÁ BAJO EL NO.568137.

LA TRADUCTORA OFICIAL

Helena Julie de la Cruz



016325-003 100 CO

COLUMBIA

Clarke, Modet & Co. Colombia Ltda.

PROPIEDAD INDUSTRIAL y DERECHOS DE AUTOR

Apartado Aereo 92397
Santafe de Bogotá, Colombia**PODER**

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) caracter de representante(s) legal

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en

por el presente instrumento confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, con domicilio en Santa Fé de Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñanzas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de

de

X *Thomas Q. Gloy*

Firma / signature

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

METABOLEX, INC.

legal representative(s) of

United States of America
an organization existing under the laws ofand in present execution of its business activity, domiciled at
3876 Bay Center Place

Hayward, CA 94545 United States of America

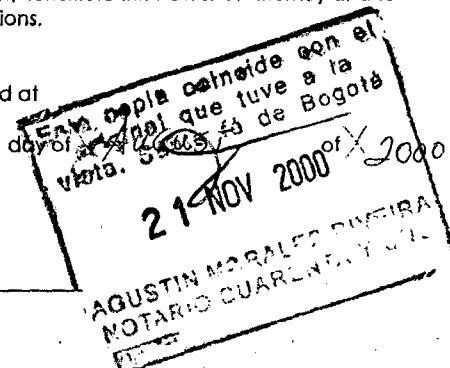
do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CARO RAMIREZ, tp. 36448, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Santa Fé de Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, vegetal varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, extensions, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or extensions, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtention or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at

on this X 9

day of



PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE
Y DERECHOS CONSULARES

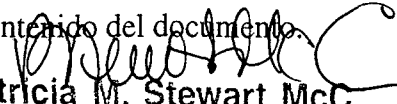
USD 22.00

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
595 Market Street
Suite 2130

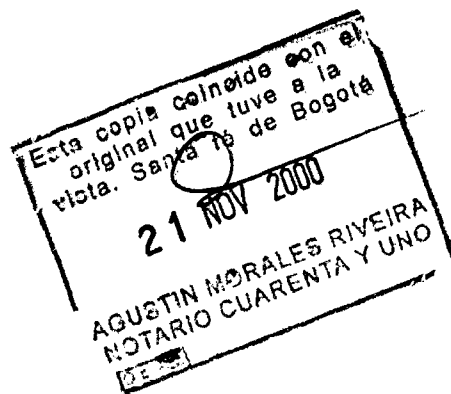
San Francisco, California **OCT 05 2000** No. 2442

El suscrito Consul General de Colombia CERTIFICA que
Patrick O'Donnell quien autoriza el
presente documento, ejercia legalmente, en la fecha alli expresada,
las funciones de Supervisor de Notario
en el Estado de California y que la firma y sello que
en el documento aparecen como suyos son los que usa y acostumbra
en sus actos oficiales. El Consulado no asume responsabilidad
alguna por el contenido del documento.




Patricia M. Stewart McC.
Consul de Colombia

Patricia M. Stewart McC.
Consul de Colombia



DEFE DE LEGALIZACIONES
SAN FRANCISCO DE BOGOTA D.C.
2000 NOV 21
149

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
474686
Copia firmada por el
DOCUMENTO PRESENTADO
LAS FIRMAS INDICADAS
Patricia M. Stewart

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es SOCIEDAD)

(Poderes otorgados en: El Salvador, Estados Unidos, Mexico y Venezuela)

A los _____ días del mes de _____ de _____, el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado en _____
firmó de su puño y letra el documento que antecede.

2. Conoce al (a la) otorgante y que este (a) está legalmente capacitado para el otorgamiento.

3. El otorgante ha firmado el referido documento en su carácter de _____
de la persona jurídica _____

4. La citada persona jurídica con sede en _____ está legalmente constituida, que tiene actualmente existencia legal y que el acto para el cual se ha otorgado este poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. El otorgante tiene efectivamente la representación que obstea, que esta es legítima y que está facultado para otorgar este poder.
6. las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5, me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Consul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____ de _____, el Notario que suscribe DA FE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado en _____
firmó en su presencia el documento que antecede, conoce al otorgante y que este está legalmente capacitado para el otorgamiento.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Consul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

Para todos los demás países el Señor Consul de Colombia o ante quien se otorgue, debe expedir una certificación dejando constancia 1) de la existencia legal de la sociedad, 2) de que esta ejerce actualmente su objeto social, y 3) de que la persona o personas que otorgan el poder están facultadas para hacerlo, dejando constancia así mismo de que tuvo a la vista las pruebas que acrediten tales circunstancias.

NOTARIAL CERTIFICATE (When the applicant is a CORPORATION)

(Powers of attorney granted in: El Salvador, Mexico, U.S.A. and Venezuela)

This 9th day of August
the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. Thomas A. Glaze
(name of the person who signs the power of attorney)

of legal age and domiciled in Hayward, California
set his hand on the foregoing document.

2. The grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

3. The grantor has executed the foregoing document in his capacity of _____
of the juridical person _____

4. The mentioned juridical person with place of business in Alameda County, Hayward California is duly organized, has actual legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. The grantor has in fact the referred quality and that his/her representation is legal and that he/she is empowered to grant this power of attorney.

6. I have based the above certifications 3, 4 and 5, on the authentic documents which for such purpose were exhibited to me.

D. L. Schott
Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

NOTARIAL CERTIFICATE (When the applicant is an INDIVIDUALS)

On this _____ day of _____
the undersigned Notary CERTIFIES that:

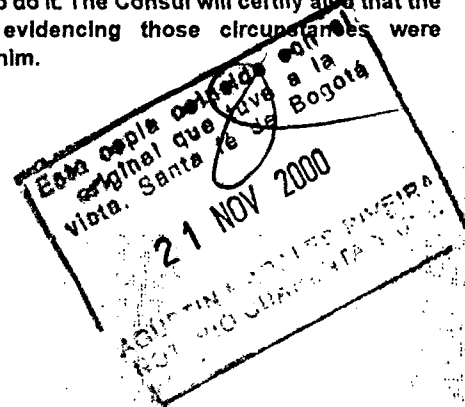
1. _____
(name of the person who signs the Power of Attorney)

of legal age and domiciled at _____
signed in his presence the foregoing document, the grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

For all other countries the Colombian Consul or before who it is granted must issue a certification stating 1) the legal existence of the corporation, 2) that the corporate purposes are actually being accomplished, 3) that the person or persons who grant this Power of Attorney are empowered to do it. The Consul will certify also that the documents evidencing those circumstances were exhibited to him.



No. 275-182 5M 9/93

COUNTY CLERK'S CERTIFICATE AS TO NOTARY PUBLIC

No. 58875

State of California }
County of Alameda } ss

I, Patrick O'Connell, County Clerk of Alameda, State of California, having by law a seal, do hereby certify that

D. L. SCHOTT

whose name is subscribed to the attached certificate of proof, acknowledgement or affidavit, was at the time of taking such proof, acknowledgement or affidavit a Notary Public in and for said Alameda County, duly commissioned and qualified and residing in said county, and was as such an officer of the State of California, duly authorized by the laws hereof to administer oaths or affirmations and to take and certify the proof and acknowledgement of deeds and other instruments in writing to be recorded in said State, and that full faith and credit are and ought to be given all his official acts as such Notary Public, and that I am well acquainted with the handwriting of said Notary Public and verily believe that the signature to the attached certificate in his genuine signature and that the annexed instrument is executed and acknowledged according to the laws of the State of California, and I further certify that an impression of the seal of said Notary Public is not required by law to be filed in my office.

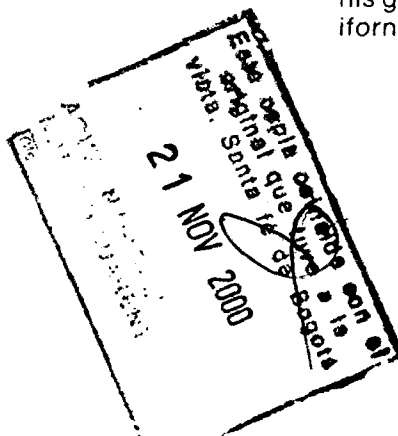
In witness whereof I have hereunto set my hand and affixed my official seal

Patrick O'Connell

County Clerk of the County of Alameda, State of California.

Seal

08/23/2000



200
11/20/00

204 207



CONSULADO DE COLOMBIA

WASHINGTON, D.C.

LA SUSCRITA CONSUL DE COLOMBIA EN WASHINGTON, D.C.
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA, POR MEDIO DEL PRESENTE
DOCUMENTO,

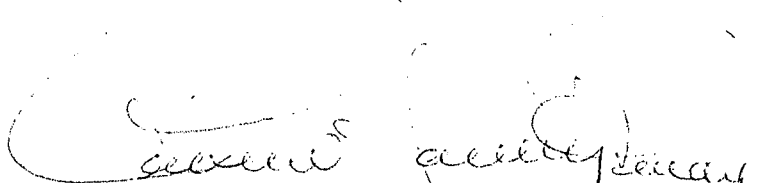
CERTIFICA:

Que es auténtica la firma de **EDWARD J. FREEL**, quien suscribio los documentos enumerados 0776824 y 0776823 del seis (6) Noviembre del dos (2000) mil, se desempeñaba como Secretario de Estado del Estado de Delaware de los Estados Unidos de America.

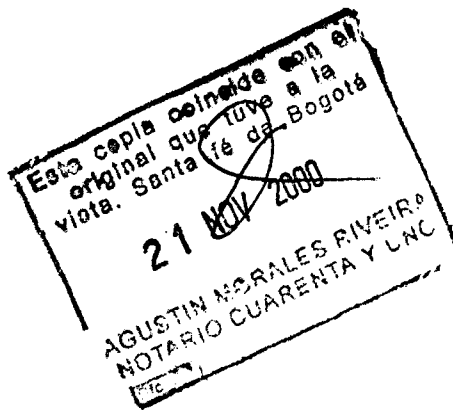
Que la Compañia "**METABOLEX, INC**" existe y actualmente y ejerce su objeto social conforme a las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América.

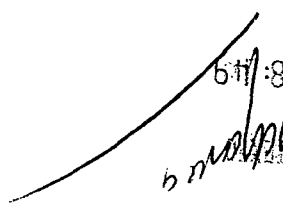
Que he tenido a la vista los documentos probatorios de los citados hechos los cuales se incorporan al presente documento;

Que, expide esta certificación en concordancia con el artículo 480 del Código de Comercio Colombiano y el articulo 65 del Codigo de Procedimiento Civil de Colombia, en la ciudad de Washington, D.C. el dia dieciseis (16) de Noviembre del del dos mil (2000).


CONSUELO SANCHEZ DURAN
CONSUL

Impuesto Timbre y Derechos Consulares: US\$107.00
(El Consulado de Colombia no asume ninguna responsabilidad por el contenido de los documentos anexos)




BOGOTÁ
21 NOV 2000
8:49
DEPARTAMENTO DE LEGALIZACIONES
CONSULADO DE COLOMBIA D.C.

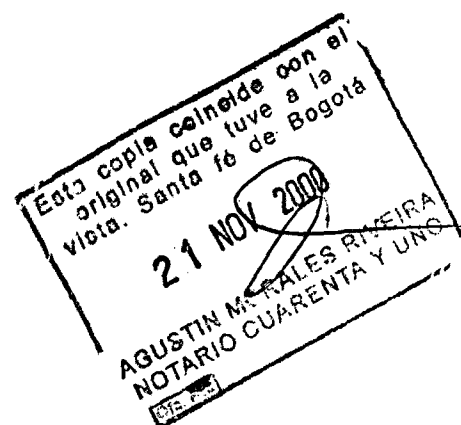
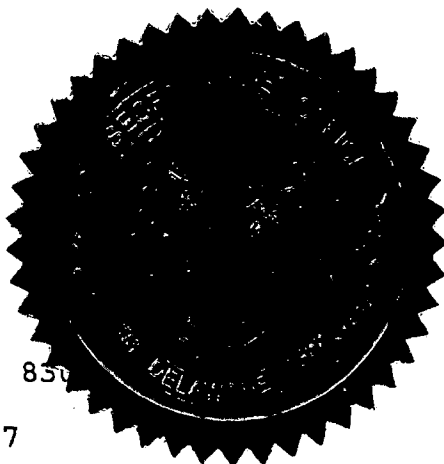
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
474687
Consuelo Sanchez
DOCUMENTO DESAPARECIDA
COPIA FIRMADA EN EL
LAS FUNCIONES INDICADAS

205 16 208

State of Delaware
Office of the Secretary of State

PAGE 1

I, EDWARD J. FREEL, SECRETARY OF STATE OF THE STATE OF DELAWARE, DO HEREBY CERTIFY "METABOLEX, INC." IS DULY INCORPORATED UNDER THE LAWS OF THE STATE OF DELAWARE AND IS IN GOOD STANDING AND HAS A LEGAL CORPORATE EXISTENCE SO FAR AS THE RECORDS OF THIS OFFICE SHOW, AS OF THE SIXTH DAY OF NOVEMBER, A.D. 2000.



Edward J. Freel

Edward J. Freel, Secretary of State

2174605 830

001557147

AUTHENTICATION: 0776824

DATE: 11-06-00

206 209

TRADUCCION OFICIAL No.898/2000.-

EL TEXTO QUE SIGUE ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES, Y LLEVA EL SELLO Y LA FIRMA DE HELENA URIBE DE LEMOINE, TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL, SEGÚN RESOLUCION No. 3618 EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA EL 6 DE SEPT.DE 1972.

TRADUCCIÓN DE LOS SELLOS QUE SE ENCUENTRAN EN EL PODER OTORGADO POR "METABOLEX, INC.", UNA SOCIEDAD ORGANIZADA Y EXISTENTE DE CONFORMIDAD CON LAS LEYES DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA, Y EN ACTUAL CUMPLIMIENTO DE SU OBJETO SOCIAL, CON DOMICILIO EN 3876 BAY CENTER PLACE, HAYWARD, CA 94545, UNITED STATES OF AMERICA, A LAS DOCTORAS DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN Y CLAUDIA LUCÍA CARO RAMÍREZ.

OTORGADO Y FIRMADO ESTE DÍA 9 DE AGOSTO DEL AÑO 2000.

FIRMADO: THOMAS A. GLAZE

ESTADO DE DELAWARE

DESPACHO DEL SECRETARIO DE ESTADO

YO, EDWARD J. FREEL, SECRETARIO DE ESTADO DEL ESTADO DE DELAWARE POR MEDIO DEL PRESENTE CERTIFICO QUE "METABOLEX, INC." ES UNA COMPAÑIA DEBIDAMENTE CONSTITUIDA DE CONFORMIDAD CON LAS LEYES DEL ESTADO DE DELAWARE Y GOZA DE BUENA REPUTACION Y TIENE EXISTENCIA CORPORATIVA TAL COMO LO DEMUESTRAN LOS ARCHIVOS DE ESTE DESPACHO, A SEIS DEL MES DE NOVIEMBRE DEL AÑO DEL SEÑOR 2000.

FIRMADO : EDWARD J. FREEL, SECRETARIO DE ESTADO

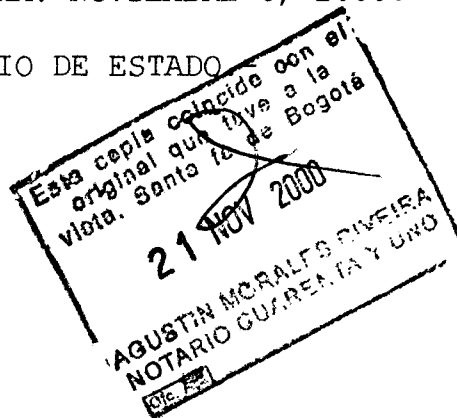
AUTENTICACION NUMERO: 0776824 FECHA: NOVIEMBRE 6, 2000.

HAY SELLO EN RELIEVE DEL SECRETARIO DE ESTADO

2174605 83 - 001557147.-

[Handwritten signature]

1

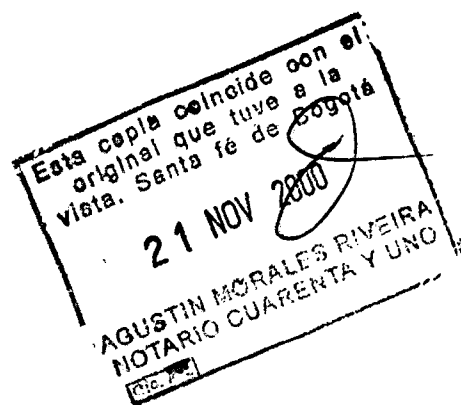


207 240
18

TRADUCCION OFICIAL No.898/2000.-

SIGUE AUTENTICACIÓN DE LA FIRMA QUE PRECEDE EFECTUADA POR
EL CÓNSUL GENERAL DE COLOMBIA EN WASHINGTON, D.C. BAJO EL
NO. 1949, Y AUTENTICACIÓN DE LA FIRMA DEL CÓNSUL EFECTUADA
POR EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN BOGOTÁ BAJO
EL NO. 474687.-

LA TRADUCTORA OFICIAL



Helena Uribe de Linares

208 211
[Signature]

TRADUCCION OFICIAL No.898/2000.-

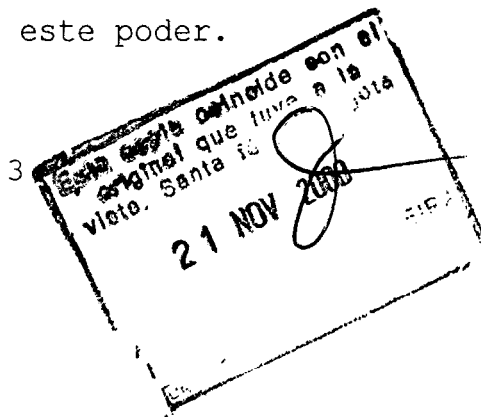
CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDADES)

PODERES OTORGADOS EN: EL SALVADOR, ESTADOS UNIDOS, MEXICO
Y VENEZUELA.

A los 9 días del mes de Agosto de 2000, el Notario que
suscribe DA FE de que:

1. THOMAS A. GLAZE, mayor de edad y domiciliado en
Hayward, California, firmó de su puño y letra el
documento que antecede.
2. Conoce al otorgante y que éste está legalmente
capacitado para el otorgamiento.
3. El otorgante ha firmado el referido documento en su
carácter de ____.
4. La citada persona jurídica con sede en Alameda
County, Hayward, California, está legalmente
constituida, que tiene actualmente existencia legal
y que el acto para el cual se ha otorgado este poder
está comprendido entre los que constituyen su objeto
social.
5. El otorgante tiene efectivamente la representación
que ostenta, que ésta es legítima y que está
facultado para otorgar este poder.

[Signature]



209 212
20

TRADUCCION OFICIAL No.898/2000.-

6. Las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5 me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos que para dicho propósito me fueron presentados.

FIRMADO: D.L. SCHOTT, NOTARIO PÚBLICO DEL ESTADO DE CALIFORNIA CON COMISIÓN HASTA NOVIEMBRE 30, 2003.

HAY SELLO DEL NOTARIO.

DESPACHO DEL SECRETARIO DEL CONDADO

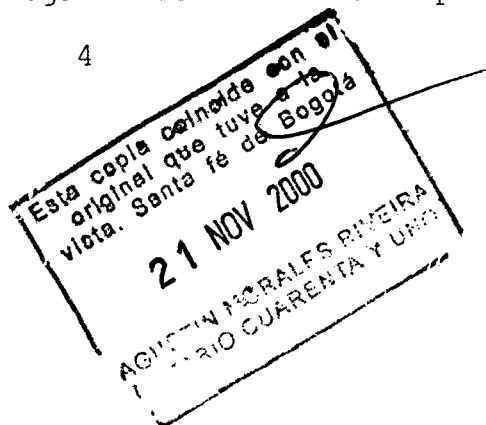
CERTIFICADO DE NOTARIO PÚBLICO NO. 58875

ESTADO DE CALIFORNIA - CONDADO DE ALAMEDA

YO, PATRICK O'CONNELL, SECRETARIO DEL CONDADO DE ALAMEDA, ESTADO DE CALIFORNIA, CON SELLO POR LEY, POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE:

D. L. SCHOTT

cuyo nombre está suscrito en el certificado de reconocimiento o prueba adjunto, era en el momento de tomar dicho reconocimiento o prueba, NOTARIO PUBLICO para el Condado de Alameda, Estado de California, debidamente comisionado, calificado y residente en dicho condado, y como tal era funcionario del Estado de California en y par el Condado de Alameda, legalmente autorizado para tomar



210 213
71

TRADUCCION OFICIAL No.898/2000.-

declaraciones juramentadas y certificar actos y otros instrumentos escritos registrados en dicho Estado, y que por tanto debe darse plena fe y crédito a todos los actos oficiales llevados como Notario Público, y que además estoy familiarizado con la firma de dicho Notario Público y por tanto creo que la firma en el certificado adjunto es auténtica y que el instrumento anexo fue ejecutado y reconocido de conformidad con las leyes del Estado de California, y que bajo las leyes, no es necesario el registro en esta oficina del sello de dicho Notario Público.

En constancia de lo anterior, firmo y coloco el sello oficial.

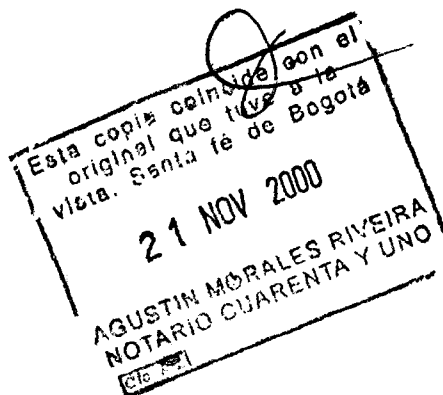
FIRMADO: PATRICK O'CONNELL, SECRETARIO DEL CONDADO DE ALAMEDA, ESTADO DE CALIFORNIA.

FECHA: AGOSTO 23 DEL AÑO 2000.-

SIGUE AUTENTICACIÓN DE LA FIRMA QUE PRECEDE EFECTUADA POR EL CÓNSUL GENERAL DE COLOMBIA EN SAN FRANCISCOBAJO EL NO. 2442, Y AUTENTICACIÓN DE LA FIRMA DEL CÓNSUL EFECTUADA POR EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN BOGOTÁ BAJO EL NO. 474686.-

LA TRADUCTORA OFICIAL

*Helena Uribe de Lencorice*⁵



211 82 214

REPUBLICA DE COLOMBIA
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

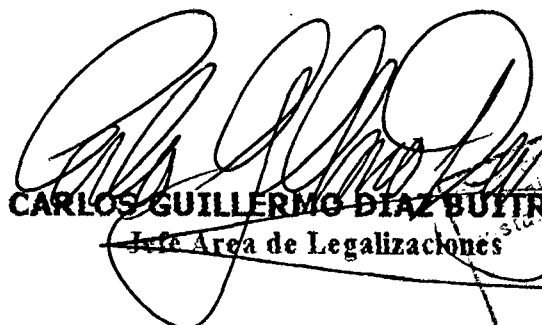
**EL SUSCRITO JEFE DEL AREA DE
LEGALIZACIONES DEL MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES**

C E R T I F I C A

Que revisados los registros que se llevan en la oficina de Legalizaciones aparece la firma de la señora **HELENA URIBE DE LEMOINE**, como traductora e intérprete oficial para los idiomas **INGLES – ESPAÑOL, ESPAÑOL- INGLES y FRANCES – ESPAÑOL, ESPAÑOL – FRANCES**, según resolución 3618 del 6 de septiembre de 1972 del Ministerio de Justicia.

La anterior certificación se expide a solicitud de **CLARKE, MODET & CO.**

Dada en Santa Fe de Bogotá, D.C., a los nueve (9) días de julio de 1999.


CARLOS GUILLERMO DIAZ BUITRAGO
Jefe Area de Legalizaciones

10 SEP 1999

AGUSTIN MORALES RIVEIRA
NOTARIO CUARENTA Y UNO

106 ALB

212 215
25

USO DE DERIVADOS DE ÁCIDO (-) (3-TRIALOMETILFENOXI)(4-HALO-FENIL) ACÉTICO PARA TRATAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LA INSULINA, DIABETES TIPO 2 E HIPERLIPIDEMIA.

CAMPO DE LA INVENCION

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

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La diabetes mellitus, comúnmente llamada diabetes, se refiere a los procesos de enfermedades derivados de factores causativos múltiples y caracterizados por niveles elevados de glucosa en plasma, referidos como hiperglicemia. Ver, por ejemplo, Le Roith, D. et al., (eds), DIABETES MELLITUS (Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, PA U.S.A.1996) y todas las referencias citadas allí. De acuerdo a la American Diabetes Association , se estima que la diabetes mellitus afecta aproximadamente el 6% de la población mundial. La hiperglicemia no controlada es asociada con el incremento y mortalidad prematura debido a un riesgo de incremento de enfermedades microvasculares y macrovasculares, incluyendo nefropatía, neuropatía, retinopatía, hipertensión, enfermedades cerebrovasculares y enfermedad coronaria. Por lo tanto el control de la homeóstasis de la glucosa es una aproximación importante para el tratamiento de la diabetes.

Hay dos formas importantes de diabetes: Diabetes Tipo 1 (formalmente referida a una diabetes dependiente de la insulina ó IDDM); y diabetes

Tipo 2 (formalmente referido a una diabetes no dependiente de la insulina ó NIDDM)

La diabetes Tipo 1 es el resultado de una deficiencia absoluta de insulina, la hormona que regula la utilización de glucosa. Esta deficiencia de

5 insulina es caracterizada por la destrucción de células β dentro de los islotes de Langerhans en el páncreas, la cual usualmente lleva a una deficiencia de insulina absoluta. La diabetes Tipo 1 tiene dos formas: Diabetes Mellitus Inmuno Mediada, la cual resulta de una destrucción celular con mediación autoinmune de las células β del páncreas; y
10 Diabetes Mellitus Idiopática, la cual se refiere a formas de la enfermedad que tienen etiologías no conocidas.

La diabetes Tipo 2 es una enfermedad caracterizada por la resistencia a la insulina acompañada por deficiencia relativa en vez de absoluta. La diabetes tipo 2 puede variar desde resistencia a la insulina predominante
15 con relativa deficiencia de insulina hasta deficiencia de insulina predominante con alguna resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina es la capacidad de disminución de insulina a ejercer su acción biológica a través de un amplio rango de concentración. En los individuos resistentes a la insulina, el cuerpo secreta cantidades altamente
20 anormales de insulina para compensar este defecto. Cuando cantidades inadecuadas de insulina están presentes para compensar la resistencia y el adecuado control de glucosa, un estado empeorado de glucosa desarrolla tolerancia. En un número significativo de individuos, la secreción de insulina declina adicionalmente y el nivel de glucosa en el
25 plasma se eleva, resultando en un estado clínico de diabetes. La diabetes Tipo 2 puede ser debida a una resistencia profunda a estimulación de

insulina de efectos reguladores sobre la glucosa y en el metabolismo de lípidos en los principales tejidos sensibles a la insulina: músculo, hígado y tejido adiposo. La resistencia a los resultados de respuesta a la insulina resulta en activación insuficiente de insulina para el consumo de glucosa, oxidación y almacenamiento en el músculo y represión de insulina inadecuada de lipólisis y tejido adiposo y producción de glucosa y secreción en el hígado. En la diabetes Tipo 2, los niveles de ácidos grasos libres están elevados a menudo en obesos y algunos pacientes no obesos y la oxidación de lípidos se incrementa.

Un desarrollo prematuro de aterosclerosis y una rata de incremento de enfermedades vasculares periféricas y cardiovascular son aspectos característicos de pacientes con diabetes. La hiperlipidemia es un factor precipitante importante para estas enfermedades. La hiperlipidemia es una condición caracterizadas generalmente por un incremento anormal en los lípidos del suero en la corriente sanguínea y es un factor de riesgo importante en el desarrollo de la aterosclerosis y enfermedades del corazón. Para una revisión de los desordenes de lípidos en el metabolismo, ver, por ejemplo, Wilson, J. et al., (ed), *Disorders of Lipid Metabolism*, Chapter 23, Textbook of Endocrinology, 9th Edition, (W.B. Sanders Company, Philadelphia, PA U.S.A. 1998; esta referencia y todas las aquí citadas están incorporadas como referencia). Las lipoproteínas del suero son las transportadoras para los lípidos en la circulación. Ellas son clasificadas de acuerdo a 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 es usualmente clasificada como hiperlipidemia primaria o secundaria. La hiperlipidemia primaria es usualmente causada por defectos genéticos, mientras la hiperlipidemia secundaria es generalmente causada por otros factores, tal como varios estados de enfermedades, drogas, y factores dietarios. Alternativamente, la hiperlipidemia puede resultar de ambos o una combinación de causas secundarias y primarias de hiperlipidemia. Los niveles de colesterol elevado están asociados con varios estados de enfermedad, incluyendo enfermedad de arteria coronaria, angina de pecho, enfermedad de arteria carótida, ataque repentino, arteriosclerosis cerebral y xantoma.

La dislipidemia, o niveles anormales de lipoproteína en el plasma sanguíneo, es una ocurrencia frecuente entre los diabéticos, y ha mostrado ser una de las principales contribuyentes en el aumento de la incidencia coronaria y muertes entre los sujetos con diabetes (ver, POR EJEMPLO, Joslin, E. *Ann. Chim. Med.* (1927) 5: 1061-1079) Estudios epidemiológicos desde entonces han confirmado la asociación y han mostrado un incremento en varias veces en muertes coronarias entre los sujetos con diabetes cuando se comparan con sujetos no diabéticos (ver, por ejemplo, García, M. J. *et al.*, *Diabetes* (1974) 23: 105-11 (1974); y Laakso, M. y Letho, S., *Diabetes Reviews* (1997)5(4): 294-315. Varias anormalidades en las lipoproteínas han sido descritas entre los sujetos diabéticos (Howard B., *et al.*, *Artherosclerosis* (1978) 30: 153-162).

Estudios previos desde 1970 han demostrado la efectividad del 2-acetamidoetil(4-clorofenil)(3-trifluorometilfenoxi) acetato racémico, (también conocido como "halofenato") como un agente terapéutico potencial para tratar la diabetes Tipo 2 e hiperlipidemia (ver, por ejemplo,

Bolhofer, W., U.S. 3,517,050; Jain, A. *et al.*, *N. Eng J. Med.* (1975) 293: 1283-1286; Kudzma, D. *et al.*, *Diabetes* (1977) 25: 291-95; Kohl, E. *et al.*, *Diabetes Care* (1984) 7: 19-24; McMahon, F.G. *et al.*, *Univ. Mich. Med. Center J.* (1970) 36: 247-248; Simori, C. *et al.*, *Lipids* (1972) 7: 96-99;

5 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, el efecto del halofenato racémico sobre la diabetes fue observado cuando se combinó con sulfonilúreas. Un efecto mínimo sobre la glucosa fue observado en pacientes con diabetes tratados con halofenato racémico

10 solo. Sin embargo, efectos colaterales fueron notados incluyendo sangrado intestinal del estómago y úlceras pépticas (ver, por ejemplo, Friedberg, S.J. *et al.*, *Clin Res* (1986) Vol. 34, No 2: 682^a).

Además, hubo algunas indicaciones de interacciones droga-droga del halofenato racémico con agentes tales como sulfato de warfarina (también

15 referido como 3-(alfa acetonilbenzilo)-4-hidroxycumarina o CoumadinaTM (Dupont Pharmaceutical. E.I. Dupont de Nemours y Co., Inc., Wilmington, DE U.S.A.) (ver, por ejemplo, Vessel, E.S. y Passantanti, G.T., *Fed Proc.* (1972) 31(2): 538. La CoumadinaTM es un anticoagulante que actúa por inhibición de la síntesis de vitamina K dependiente de los factores de

20 coagulación (los cuales incluyen los Factores II, VII, IX, y X y las proteínas anticoagulantes C y S). La CoumadinaTM se considera como estereoespecíficamente metabolizada por enzimas microsomales hepáticas (Las enzimas del citocromo P450). Las isoenzimas del citocromo P450 involucrado en el metabolismo de la Coumadina incluyen las 2C9, 2C19,

25 2C8, 2C18, 1A2, y 3A4. El 2C9 es semejante al de la forma principal del P450 del hígado humano el cual modula *in vivo* el metabolismo de varias

drogas incluyendo la actividad anticoagulante de la Coumadina™ (ver, por ejemplo, Miners. J.O. *et al.*, *Bri.J. Clin. Pharmacol.* (1998) 45: 525-538).

Las drogas que inhiben el metabolismo de la Coumadina™ resultan en un posterior decrecimiento de vitamina K dependiente de los factores

5 anticoagulantes que previenen la coagulación entonces más deseada en los pacientes que reciben tal terapia (esto es, pacientes con riesgo de embolia cerebral o pulmonar de coágulos de sangre en sus extremidades inferiores, corazón y otros sitios.) Una reducción sencilla de la dosis de anticoagulantes es difícil a menudo así como una necesidad para
10 mantener anticoagulación adecuada para prevenir la formación de coágulos de sangre. El incremento de la anticoagulación de la interacción droga-droga resulta en un riesgo significativo para tales pacientes con la posibilidad de sangrados severos de heridas de tejidos suaves, sitios gastrointestinales (esto es, úlceras gástricas o intestinales) u otras lesiones
15 (esto es, aneurisma aórtico). El sangrado en el rostro de altísima anticoagulación constituye una emergencia médica y puede resultar en muerte si este no es tratado inmediatamente con la terapia apropiada.

El Citocromo P450 2C9 se sabe también que está involucrado en el metabolismo de algunas drogas usadas comúnmente, incluyendo
20 dilantina, sulfonilureas, tal como tolbutamida y algunos agentes antiinflamatorios no esteroides, tal como ibuprofeno. La inhibición de esta enzima tiene el potencial para causar otros efectos adversos relacionados a interacciones de droga-droga, además de lo descrito anteriormente para la Coumadina™ (ver, por ejemplo, Pelkonen, O. *et al.*, *Xenobiotica* (1998) 28:
25 1203-1253; Linn, J.H. y Lu, A.Y., *Clin Pharmacokinet.* (1998) 35 (5): 361-390).

218 24
5

Las soluciones a las dificultades anteriores y deficiencias son necesarias antes de que el halofenato se haga efectivo para tratamiento de rutina de resistencia a la insulina, diabetes Tipo 2 e hiperlipidemia. La presente invención satisface esta y otras necesidades suministrando composiciones y métodos para mitigar la resistencia a la insulina, la diabetes Tipo 2 y la hiperlipidemia, mientras presenta un mejor perfil de efectos adversos.

RESUMEN DE LA INVENCION

10 La presente invención suministra un método de modulación de la diabetes Tipo 2 en un mamífero. El método comprende la administración al mamífero de una cantidad efectiva terapéuticamente del (-) estereoisómero de un compuesto de Fórmula I,

15

en donde:

R es un miembro seleccionado del grupo consistente de un hidroxil, aralcoxi inferior, di-alquilamino inferior-alcoxi inferior, alcanamido inferior, alcoxi inferior, benzamido-alcoxi inferior, ureido-alcoxi inferior, N'-alquil inferior-ureido-alcoxi inferior, alcoxi-carbamoilo inferior, alcoxi inferior halofenoxi sustituido, fenoxi carbamoilo sustituido, carbonil alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior alquilamino inferior, alquilamino inferior halo sustituido, alquilamino inferior hidroxil sustituido, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxil inferior, ureido, y

alcoxicarbonilamino; y X es un halógeno; ó una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el compuesto está sustancialmente libre de su estereoisómero (+).

Algunos de tales métodos comprenden adicionalmente un compuesto de

5 Fórmula II:

10 en donde R^2 es un miembro seleccionado del grupo consistente de fenil-alquilo inferior, alcanamido inferior-alquilo inferior, y benzamido-alquilo inferior.

Algunos de tales métodos comprenden adicionalmente un compuesto de
Fórmula III:

15

El compuesto preferido de fórmula III es conocido como "(-) 2 acetamidoetil
20 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)-acetato" ó "(-) halofenato."

La presente invención suministra adicionalmente un método para modulación de resistencia a la insulina en mamíferos. Este método comprende administración a un mamífero de una cantidad efectiva terapéuticamente de un (-) estereoisómero del compuesto de fórmula I.

25 Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula

220 3223

II. Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de fórmula III.

La presente invención suministra además un método para el alivio de la hiperlipidemia en un mamífero. Este método comprende la administración al mamífero de una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto de fórmula II. Algunos de tales métodos comprenden además un compuesto de Fórmula III.

La presente invención también suministra composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas comprenden un transportador aceptable farmacéuticamente y una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto de fórmula I, fórmula II o fórmula III.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra la inhibición de la actividad del citocromo P450 2C9 (CYP2C9) por el ácido halofénico racémico, (-) ácido halofénico y (+) ácido halofénico. La hidroxilación de la tolbutamida fue medida en la presencia del incremento de concentraciones de estos compuestos. El ácido halofénico racémico inhibió la actividad CYP 2C9 con un IC_{50} de $0.45 \mu M$ y (+) ácido halofénico inhibido CYP 2C9 con un IC_{50} de $0.22 \mu M$. En contraste, el (-) ácido halofénico fue 20 veces menos potente con un aparente IC_{50} de $3.5 \mu M$.

La Figura 2 muestra el decurso en el tiempo del descenso de glucosa siguiendo una dosis oral sencilla de halofenato racémico, enantiómero (-) del halofenato o enantiómero (+) del halofenato a 250 mg/kg en ratones ob/ob diabéticos. El enantiómero (-) mostró el inicio más rápido de la acción y la mayor duración de la acción. El descenso en la glucosa fue

significativo ($p < 0.05$) para el enantiómero (-) en comparación con el control para todos los puntos de 3 a 24 horas. El halofenato racémico y el enantiómero (+) también fueron significativos para todos los puntos ($p < 0.05$) de 4.5 a 24 horas. La glucosa en plasma a 24 horas fue 217 ± 16.4 mg/dl en animales tratados con el enantiómero (-), en comparación a los 306 ± 28.5 mg/dl y 259.3 ± 20.8 mg/dl para animales tratados con el enantiómero (+) y el racemato, respectivamente. La glucosa en plasma en los controles tratados con el vehículo fue 408 ± 16.2 mg/dl a 24 horas. El enantiómero (-) fue más efectivo y significativamente diferente ($p < 0.05$) del enantiómero (+) en los tiempos tanto de 3 horas como de 24 horas.

La Figura 3 muestra la capacidad del halofenato racémico y de ambos enantiómeros (-) y (+) del halofenato para disminuir la glucosa en plasma en ratones diabéticos ob/ob siguiendo una administración oral diaria. El racemato se aplicó a una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros se aplicaron a dosis de 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día. Se observaron significativos descensos en los niveles de glucosa con relación a los animales de control, en animales tratados con halofenato racémico y con ambos enantiómeros (-) y (+). En la dosis baja (125 mg/kg) de tratamiento con los enantiómeros (-) y (+), el enantiómero (-) fue significativo a 6, 27 y 30 horas mientras que el enantiómero (+) fue significativo solamente a 6 y 27 horas.

La Figura 4 muestra los niveles de insulina en el plasma en los ratones ob/ob tratados con halofenato racémico y con ambos enantiómeros (-) y (+) del halofenato en ratones ob/ob diabéticos siguiendo una administración oral diaria. El racemato fue aplicado en una dosis de 250 mg/kg/día y los enantiómeros fueron aplicados en dosis de 125 mg/kg/día y 250

mg/kg/día. Con respecto al control de vehículo, las insulinas fueron menores en los animales tratados bien con el racemato o bien con los enantiómeros del halofenato. En la dosis alta, el mayor grado de insulina reducida en el plasma fue notado a 27 y 30 horas en animales tratados con ambos enantiómeros (-) y (+) del halofenato siguiendo dos días del tratamiento.

La figura 5 muestra los niveles de glucosa en el plasma siguiendo un ayuno durante la noche en ratones ob/ob después de 5 días de tratamiento con vehículo, halofenato racémico a 250 mg/kg/día, enantiómero (-) de halofenato a 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día ó enantiómero (+) de halofenato a 125 mg/kg/día ó 250 mg/kg/día. Los animales de control eran hiperglicémicos con niveles de glucosa en el plasma de 185.4 ± 12.3 mg/dl. Todos los animales tratados con halofenato mostraron reducciones significativas en la glucosa ($p < 0.01$). Las altas dosis de ambos halofenatos disminuyeron la glucosa casi a niveles normales a 127.3 ± 8.0 mg/dl y 127.2 ± 9.9 mg/dl para animales tratados con el enantiómero (-) y el enantiómero (+), respectivamente.

La Figura 6 muestra los niveles de insulina en el plasma con ayuno durante la noche en los ratones ob/ob tratados con vehículo, halofenato racémico a 250 mg/kg/día, enantiómero (-) a 125 mg/kg/día y 250 mg/kg/día ó el enantiómero (+) del halofenato a 125 mg/kg/día ó 250 mg/kg/día durante 5 días. Insulinas en plasma significativamente menores se observaron en animales que recibieron ambas dosis del enantiómero (-). La dosis baja del enantiómero (-). La dosis baja del enantiómero (+) del halofenato no disminuyó la insulina en el plasma,

aunque la dosis alta del enantiómero (+) produjo un descenso en la insulina del plasma.

La Figura 7A muestra los niveles de glucosa en el plasma después de una reto con glucosa oral en ratas Zucker gordas, un modelo de resistencia a la insulina y Tolerancia Impedida a la Glucosa. Estos animales fueron tratados bien con un control de vehículo, con halofenato racémico, halofenato (-) ó halofenato (+) 5.5 horas antes de la prueba con glucosa. El racemato fue aplicado a 100 mg/kg y ambos enantiómeros fueron aplicados a 50 y 100 mg/kg. En los animales de control la glucosa se elevó a >250 mg/dl 30 minutos después de la prueba, una clara indicación de la tolerancia impedida a la glucosa. La glucosa en el plasma se redujo en ratas que habían recibido el halofenato racémico, especialmente entre 30-60 minutos después del reto. Los animales que recibieron el racemato (-) en 100 mg/kg tuvieron el mayor grado de descenso en glucosa entre todos los animales tratados. Los animales tratados con el halofenato (-) tuvieron niveles de glucosa más bajos que persistieron a 90-120 minutos, comparados con aquellas ratas tratadas con el racemato del halofenato (+). La Figura 7B compara el área incremental bajo la curva (AUC) para los animales de cada grupo. Se advirtieron cambios significativos ($p < 0.05$) en los grupos tratados con ambas dosis del halofenato (-). Aunque la AUC fue menor en los otros grupos relacionados al control, los cambios no fueron significativos.

La Figura 8 muestra los resultados de una prueba corta de la tolerancia a la insulina, en ratas Zucker gordas que fueron tratadas bien con un control de vehículo, halofenato (-) (50 mg/kg/día) ó halofenato (+) (50 gm/kg/día) durante 5 días. Esta prueba es una medida de la sensibilidad

a la insulina de los animales de prueba, representando la pendiente del descenso en glucosa una medida directa la respuesta a la insulina. Los animales tratados con halofenato (-) eran significativamente más sensibles a la insulina que los tratados con el vehículo ($p < 0.01$) o que los animales
5 tratados con el halofenato (+) ($p < 0.03$).

La Figura 9A muestra los niveles de colesterol en plasma en ratas de Zucker Diabéticas Gordas durante 13 días con halofenato racémico, enantiómero (-) o enantiómero (+) a 50 mg/kg/día, 25 mg/kg/día ó 25 mg/kg/día, respectivamente, con respecto a un grupo de control tratado
10 con vehículo. En animales tratados con el enantiómero (-) así como con los tratados con racemato, el colesterol en el 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 de control. La Figura 9B compara las diferencias en el
15 colesterol en el plasma entre el grupo de control y los grupos tratados. El enantiómero (-) fue la más activa de las especies probadas.

La Figura 10A muestra los niveles de colesterol en el plasma en ratas Zucker Diabéticas Gordas tratadas durante 14 días tanto con enantiómero (-) como con enantiómero (+) de halofenato a 12.5 mg/kg/día (dosis Baja) ó
20 a 37.5 mg/kg/día (dosis Alta) con respecto a un grupo de control tratado con vehículo. En los animales tratados con la dosis alta, el enantiómero (-) produjo el mayor grado de disminución en colesterol. La Figura 10B compara las diferencias en el colesterol en el plasma entre los grupos de control y los tratados. Hubo diferencias significativas en los animales
25 tratados con el enantiómero (-) después de 7 días con la dosis baja y

después de 7 y 14 días con la dosis alta. El enantiómero (+) mostró influencia sólo después de 7 días de tratamiento con la dosis alta.

La Figura 11A muestra los niveles de triglicéridos en el plasma en ratas de Zucker Diabéticas Gordas tratadas con el enantiómero (-) o con el enantiómero (+) a 12.5 mg/kg/día (dosis Baja) o con 37 mg/kg/día (dosis Alta) con respecto a un grupo de control tratado con vehículo. Los animales tratados con la dosis alta del enantiómero (-) tuvieron los niveles más bajos de triglicéridos entre todos los grupos de tratamiento. La Figura 11B compara las diferencias en triglicéridos en el plasma entre los grupos de control y los tratados. A los 7 días, la dosis alta de ambos enantiómeros (-) y (+) mostraron significativa disminución de triglicéridos en el plasma.

La Figura 12 muestra niveles de glucosa en el plasma en ratas Zucker Diabéticas Gordas tratadas con vehículo, halofenato (-) o halofenato (+) en el día 0, día 2 y día 3. El tratamiento con halofenato (-) redujo significativamente las concentraciones de glucosa en comparación con los animales tratados con vehículo.

La Figura 13 muestra las concentraciones de glucosa en plasma en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db versus un grupo tratado con halofenato (-). Los niveles de glucosa en el plasma en el grupo de control se incrementaron progresivamente en animales envejecidos, mientras que el incremento de los niveles de glucosa en el plasma en el grupo tratado con el halofenato (-) se previno o disminuyó significativamente.

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

de insulina en el plasma, mientras que la insulina en el plasma en el grupo de control disminuyó progresivamente.

La Figura 15 muestra el porcentaje de ratones no diabéticos en un grupo de control de ratones C57BL/6J db/db versus un grupo tratado con halofenato (-). Aproximadamente el 30% de los ratones en el grupo tratado con halofenato (-) no desarrolló diabetes (niveles de glucosa en el plasma >250 mg/dl), en tanto que todos los grupos de control lo hicieron alrededor de 10 semanas de edad.

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

DEFINICIONES

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

El término "resistencia a la insulina" puede definirse en general como un desorden en el metabolismo de la glucosa. Más específicamente, la resistencia a la insulina puede definirse como la capacidad disminuida para ejercer su acción biológica a través de un amplio rango de concentraciones que producen menos que el efecto biológico esperado.

(ver, 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 para

metabolizar apropiadamente la glucosa y responden pobremente, si lo hacen, a la terapia con insulina. Las manifestaciones de resistencia a la insulina incluyen activación insuficiente de la insulina ante el consumo de glucosa, oxidación y almacenamiento en los músculos e inadecuada represión por 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 y contribuir al síndrome ovárico policístico, a la Tolerancia Impedida a la Glucosa (IGT), diabetes gestacional, hipertensión, obesidad, aterosclerosis y una variedad de otros desórdenes. Eventualmente, los individuos resistentes a la insulina pueden avanzar hasta un punto en donde se alcanza un estado diabético. Las asociaciones de la resistencia a la insulina con la intolerancia a la glucosa, un incremento en los triglicéridos del plasma y un descenso en las concentraciones de colesterol con lipoproteína de alta densidad, alta presión sanguínea, hiperuricemia, partículas de lipoproteína de baja densidad más densas más pequeñas y mayores niveles circulantes del activador inhibidor-1 del plaminógeno, han sido mencionadas como "Síndrome X" (ver, por ejemplo, Reaven, G.M., *Physiol.Rev.* (1995)75:473-486).

El término "diabetes mellitus" ó "diabetes" significa una enfermedad o condición que se caracteriza generalmente por defectos metabólicos en la producción o utilización de glucosa, lo cual se traduce en una falla en mantener niveles apropiados de azúcar en el cuerpo. El resultado de estos defectos es una glucosa elevada en la sangre, denominado "hiperglicemia".

Dos formas principales de diabetes son la diabetes Tipo 1 y la diabetes Tipo 2. Como se describió antes, la diabetes Tipo 1 es en general el

resultado de una deficiencia absoluta de insulina, la hormona que regula la utilización de la glucosa. La diabetes Tipo 2 frecuentemente frente a niveles normales, o aun elevados de insulina y puede resultar de la incapacidad de los tejidos para responder apropiadamente a la insulina. La mayoría de los pacientes de diabetes Tipo 2 son resistentes a la insulina y tiene una deficiencia relativa de insulina, en cuanto la secreción de insulina no puede compensar la resistencia de los tejidos periféricos para responder a la insulina. Además, muchos diabéticos Tipo 2 son obesos. Otros tipos de desórdenes de homeostasis de la glucosa incluyen la Tolerancia Impedida a la Glucosa, que es un estado metabólico intermedio entre la homeostasis normal de la glucosa y la diabetes, y la Diabetes Mellitus Gestacional, que es una intolerancia a la glucosa en el embarazo en mujeres sin historial previo de diabetes Tipo 1 ó Tipo 2.

El término "diabetes secundaria" es una diabetes que resulta de otras etiologías identificables que incluyen: defectos genéticos de la función de las células β (por ejemplo, diabetes juvenil iniciada con la madurez, denominada "MODY", que es una forma de inicio temprana de la diabetes Tipo 2 con herencia autosomática; *ver, por ejemplo, Fajans, S. et al., Diabet.Med. (1996)(9 Suppl 6): S90-5 y Bell, G. et al., Annu.Rev. Physiol. (1996)58:171-86*; defectos genéticos en la acción de la insulina; enfermedades del páncreas exocrino (por ejemplo, hemocromatosis, pancreatitis y fibrosis cística); ciertas enfermedades endocrinas en las cuales excesos de hormonas interfieren con la acción de la insulina (por ejemplo, la hormona de crecimiento en la acromegalia y del cortisol en el síndrome de Cushing); ciertas drogas que suprimen la secreción de insulina (por ejemplo, fentoína) ó que inhiben la acción de la insulina (por

ejemplo, estrógenos y glucocorticoides); y diabetes causada por infección (por ejemplo, rubella, Coxsackie y CMV); así como otros síndromes genéticos.

Las guías para el diagnóstico de la diabetes Tipo 2, de la tolerancia
5 impedida a la glucosa y la diabetes gestacional, han sido delineadas por la *American Diabetes Association* (ver, por ejemplo, *The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care*, (1999) Vol 2 (Suppl 1):S5-19).

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

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

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

El término "hemoglobina" ó "Hb" se refiere a un pigmento respiratorio presente en los eritrocitos, que es grandemente responsable del transporte de oxígeno. Una molécula de hemoglobina comprende cuatro subunidades de polipéptidos (dos unidades de cadena α y dos unidades de cadena β ,
20 respectivamente). Cada subunidad está formada por asociación de una proteína globina y una molécula heme la cual es un complejo hierro-protoporfirina. La principal clase de hemoglobina encontrada en el hemolisado de un adulto normal es la hemoglobina de adulto (denominada "HbA"; también se denomina HbA₀ para distinguirla de la hemoglobina
25 glicada, la cual se denomina "HbA₁", descrita como *infra*) y tiene

subunidades $\alpha_2\beta_2$. Componentes traza, tales como HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) pueden encontrarse también en el hemolisado de un adulto normal.

Entre las clases de hemoglobina de adulto HbAs, hay una hemoglobina glicada (denominada "HbA₁", o "hemoglobina glicosilada"), que puede fraccionarse adicionalmente en HbA_{1a1}, HbA_{1a2}, HbA_{1b} y HbA_{1c}, mediante una resina de fraccionamiento de intercambio iónico. Todas estas subclases tiene la misma estructura primaria, que se estabiliza por formación de una aldimina (base de Schiff) por el grupo amino de la valina N-terminal en la cadena de la subunidad β de la hemoglobina normal HbA y la glucosa (o glucosa-6-fosfato o fructosa) seguida por la formación de cetoamina mediante el reordenamiento de Amadori.

El término "hemoglobina glicosilada" (también denominada "HbA_{1c}", "GHb", "hemoglobina glicosilada", "índice de control diabético" y "glicohemoglobina"; de aquí en adelante denominada "hemoglobina A_{1c}") se refiere a un producto estable de la glicosilación no enzimática de la cadena β de la hemoglobina por la glucosa del plasma: La hemoglobina A_{1c} comprende la principal porción de las hemoglobinas glicadas en la sangre. La proporción de hemoglobina glicosilada es proporcional al nivel de glucosa en la sangre. Por lo tanto, la rata de formación de la hemoglobina A_{1c} se incrementa directamente con el incremento de los niveles de glucosa en el plasma. Dado que la glicosilación ocurre a una rata constante durante el tiempo de vida de 120 días de un eritrocito, la medición de los niveles de hemoglobina glicosilada refleja el nivel promedio de glucosa en la sangre para un individuo durante los dos o tres meses precedentes. Por lo tanto, la determinación de la cantidad de hemoglobina HbA_{1c} glicosilada puede ser un buen índice para el control del metabolismo de los

carbohidratos. De acuerdo a ello, los niveles de glucosa en la sangre de los últimos dos meses pueden estimarse sobre la base de la relación de HbA_{1c} a la hemoglobina total Hb. El análisis de la hemoglobina A_{1c} en la sangre se usa como una medición que posibilita un control a largo plazo del nivel de glucosa en la sangre (*ver, 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, pero no se limita a, poliuria, polidipsia y polifagia, como se usan aquí, incorporando su uso común. Por ejemplo, "poliuria" significa el paso de un gran volumen de orina durante un periodo dado; "polidipsia" significa sed crónica, excesiva; y "polifagia" significa el comer en exceso. Otros síntomas de diabetes incluyen, por ejemplo, susceptibilidad aumentada a ciertas infecciones (especialmente infecciones fúngicas y con estafilococos), náusea y cetoacidosis (producción aumentada de cuerpos cetónicos en la sangre).

El término "complicación" de diabetes incluye, pero no se limita a, complicaciones microvasculares y complicaciones macrovasculares. Las complicaciones microvasculares son aquellas complicaciones que generalmente se traducen en daños en los vasos sanguíneos pequeños. Estas complicaciones incluyen, por ejemplo, retinopatía (el deterioro o pérdida de la visión debido a daños en los vasos sanguíneos de los ojos); neuropatía (daño en los nervios y problemas en los pies debido a daños en los vasos sanguíneos en el sistema nervioso); y nefropatía (enfermedad de los riñones debida a daños en los vasos sanguíneos de los riñones). Las complicaciones macrovasculares son aquellas complicaciones que generalmente resultan de daños en los vasos sanguíneos mayores. Estas complicaciones incluyen, por ejemplo, enfermedades cardiovasculares y

enfermedades vasculares periféricas. Las enfermedades cardiovasculares se refieren a enfermedades de los vasos sanguíneos del corazón. Ver, por ejemplo, Kaplan, R.M., *et al.*, "Cardiovascular diseases" in HEALTH AND HUMAN BEHAVIOR, pp. 206-242 (McGraw-Hill, New York 1993). La

5 enfermedad cardiovascular es en general una de varias formas, incluyendo, por ejemplo, hipertensión (también denominada "alta presión sanguínea", enfermedad coronaria del corazón, infarto y enfermedad reumática del corazón. Enfermedad vascular periférica se refiere a enfermedades de cualquiera de los vasos sanguíneos por fuera del corazón.

10 Frecuentemente consiste en un estrechamiento de los vasos sanguíneos que transportan la sangre a los músculos de brazos y piernas.

El término "aterosclerosis" comprende enfermedades y condiciones vasculares que son reconocidas y entendidas por los médicos que ejercen en los campos relevantes de la medicina. La enfermedad cardiovascular

15 arteriosclerótica, la enfermedad coronaria cardíaca (también conocida como enfermedad de la arteria coronaria o enfermedad isquémica cardíaca), la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad vascular periférica son todas manifestaciones clínicas de la aterosclerosis y están por tanto comprendidas por los términos "aterosclerosis" y "enfermedad

20 arteriosclerótica".

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

El término "hiperlipidemia" se refiere a la presencia de un nivel anormalmente alto de lípidos en la sangre. La hiperlipidemia puede

25 aparecer en al menos tres formas: (1) hipercolesterolemia, esto es, un nivel elevado de colesterol; (2) hipertrigliceridemia, esto es, un nivel elevado de

triglicéridos; y (3) hiperlipidemia combinada, esto es, una combinación de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

El término "modular" se refiere al tratamiento, prevención, supresión, mejoramiento o inducción de una función o condición. Por ejemplo, los
5 compuestos de la presente invención pueden modular la hiperlipidemia disminuyendo el colesterol en un humano, suprimiendo así la hiperlipidemia.

El término "tratar" significa el manejo y cuidado de un sujeto humano con el propósito de combatir la enfermedad, condición o desorden e incluye la
10 administración de un compuesto de la presente invención para prevenir el inicio de los síntomas o complicaciones, aliviando los síntomas o complicaciones, o eliminando la enfermedad, condición o desorden.

El término "colesterol" se refiere a un alcohol esteroide que es un componente esencial de las membranas celulares y de las envolturas de
15 mielina y, tal como se usa aquí, incorpora su uso común. El colesterol también sirve como precursor para hormonas esteroideas y ácidos biliares.

El término "triglicérido(s)" ("TGs"), como se usa aquí, incorpora su uso común. Un TG consiste de moléculas de ácidos grasos esterificadas con
20 una molécula de glicerol y sirven para almacenar ácidos grasos que son usados por las células musculares para producir energía o son tomados y almacenados por el tejido adiposo.

Puesto que el colesterol y los TG son insolubles en agua, deben empacarse en complejos moleculares especiales conocidos como "lipoproteínas" con el
25 fin de ser transportados en el plasma. Las lipoproteínas pueden acumularse en el plasma debido a una superproducción y/o remoción

deficiente. Hay al menos cinco lipoproteína distintas que difieren en tamaño, composición, densidad y función. En las células del intestino delgado, los lípidos de la dieta son empaquetados en grandes complejos de lipoproteínas llamados "quilomicrones", que tienen alto contenido de TG y bajo de colesterol. En el hígado, los TG y ésteres del colesterol son empaquetados y liberados al plasma como lipoproteínas ricas en TG llamadas 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 una acción enzimática, las VLDL pueden ser reducidas o consumidas por el hígado, o transformadas en lipoproteínas de densidad intermedia ("IDL"). Las IDL, a su vez, son consumidas por el hígado o modificadas adicionalmente para formar lipoproteínas de baja densidad ("LDL"). Las LDL son consumidas y degradadas por el hígado o bien consumidas por el tejido extrahepático. Las lipoproteínas de alta densidad ("HDL") ayudan a remover el colesterol de los tejidos periféricos en un proceso llamado transporte reverso de colesterol.

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

Ejemplos de Hiperlipidemia Primaria incluyen, pero no se limitan a, los siguientes:

(1) *Hiperquilomicronemia familiar*, un raro desorden genético que causa una deficiencia en una enzima, la LP lipasa, que rompe las

moléculas de grasa. La deficiencia en LP lipasa puede causar la acumulación de grandes cantidades de grasa o lipoproteínas en la sangre;

(2) *Hipercolesterolemia familiar*, un desorden genético relativamente común causado cuando el defecto subyacente es una serie de mutaciones en el gen receptor de la LDL que se traduce en un mal funcionamiento de los receptores de LDL y/o ausencia de los receptores de LDL. Esto lleva a una inefectiva limpieza de LDL por los receptores de LDL lo que produce niveles elevados de LDL y colesterol en el plasma;

(3) *Hiperlipidemia familiar combinada*, también conocida como hiperlipidemia múltiple tipo lipoprotéica, un desorden hereditario en donde los pacientes y sus familiares en primer grado afectados pueden en diversos momentos manifestar alto colesterol y altos triglicéridos. Los niveles del colesterol HDL disminuyen con frecuencia moderadamente;

(4) *Apolipoproteína defectuosa familiar B-100* es una anomalía genética dominante autosómica relativamente común. El defecto es causado por una mutación de un nucleótido sencillo que produce una sustitución de glutamina por arginina la cual puede causar una afinidad reducida de las partículas de LDL por el receptor de LDL. Consecuentemente, esto puede causar altos niveles de LDL y de colesterol total en el plasma;

(5) *Disbetalipoproteinemia familiar*, también conocida como Hiperlipoproteinemia Tipo III, es un desorden hereditario no común que resulta en elevaciones moderadas hasta severas de los niveles de TG y colesterol en el suero con una función anormal de la apolipoproteína E. Los niveles de HDL son en general normales; y

(6) *Hipertrigliceridemia familiar*, es un desorden hereditario común en el cual la concentración de VLDL en el plasma es elevada. Esto puede causar niveles de triglicéridos desde medianos hasta moderadamente elevados (y usualmente no afecta los niveles de colesterol) y puede asociarse frecuentemente asociarse con bajos niveles de HDL en el plasma.

Los factores de riesgo en la Hiperlipidemia Secundaria ejemplificada incluyen pero no se limitan a, los siguientes: (1) factores de riesgo de enfermedad, tales como una historia de diabetes Tipo 1, diabetes Tipo 2, síndrome de Cushing, hipotiroidismo y ciertos tipos de falla renal; (2) factores de riesgo a las drogas, que incluyen píldoras de control natal; hormonas, tales como estrógenos y corticosteroides; ciertos diuréticos; y varios bloqueadores β ; factores de riesgo dietario que incluyen consumo de grasas dietario por calorías totales mayor del 40%; consumo de grasas saturadas por calorías totales mayor del 10%; consumo de colesterol mayor de 300 mg por día; uso habitual y excesivo del alcohol; y obesidad.

Los términos "obeso" y "obesidad" indican, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, un Índice de Masa Corporal (BMI) de más de 27.8 m^2 para los hombres y de 27.3 kg/m^2 para las mujeres (BMI es igual a peso (kg)/altura (m^2)). La obesidad está ligada a una variedad de condiciones médicas que incluye la diabetes y la hiperlipidemia. La obesidad también es conocida como un factor de riesgo para el desarrollo de diabetes Tipo 2 (ver, por ejemplo, Barrett-Conner, E., *Epidemol.Rev.* (1988)11:172-181; y Knowler, et al., *Am.J.Clin.Nutr.* (1991)53:1543-1551).

"Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales no tóxicas de metales alcalinos. alcalinotérreos y de amonio usadas comúnmente en la industria farmacéutica e incluyen las sales de sodio, potasio, litio, calcio,

magnesio, bario, amonio y protamina de zinc, que se preparan por métodos bien conocidos en la técnica. El término también incluye sales no tóxicas de adición, que se preparan generalmente haciendo reaccionar los compuestos de la presente invención con un ácido orgánico o inorgánico apropiado. Sales representativas incluyen, pero no se limitan a, clorhidrato, bromhidrato, sulfato, bisulfato, acetato, oxalato, valerato, oleato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, napsilato y similares.

“Sal de adición farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas sales que retienen la efectividad y propiedades biológicas de las bases libres y que no son indeseables biológicamente o de alguna otra manera, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares. Para una descripción de las sales farmacéuticamente aceptables como prodrogas, ver, por ejemplo, Bundgaard, H., ed., *Design of Prodrugs* (Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1985).

“Ésteres farmacéuticamente aceptables” se refiere a aquellos ésteres que retiene, por hidrólisis del enlace éster, la efectividad y propiedades biológicas del ácido carboxílico o alcohol y que no son indeseables biológicamente o de otra manera. Para una descripción de ésteres farmacéuticamente aceptables como prodrogas, ver Bundgaard, H., *supra*.

49
238 241

Estos ésteres son formados típicamente a partir del correspondiente ácido carboxílico y un alcohol. Generalmente, la formación de éster puede lograrse a través de técnicas sintéticas convencionales. (Ver, por ejemplo, March *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., p. 1157 (John Wiley & Sons, New York 1985) y las referencias allí citadas, y Mark *et al.*, *Encyclopedia of Chemical Technology*, (1980) John Wiley & Sons, New York). El componente alcohólico del éster comprenderá en general: (i) un alcohol alifático C₂-C₁₂ que puede o no contener uno o más dobles enlaces y puede o no contener carbonos ramificados; ó (ii) alcoholes C₇-C₁₂ aromáticos o heteroaromáticos. La presente invención también contempla el uso de aquellas composiciones que son también ésteres y que se describen aquí y que al mismo tiempo son sales de adición de las mismas, farmacéuticamente aceptables.

“Amida farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas amidas que retienen, por hidrólisis del enlace amida, la efectividad y propiedades biológicas del ácido carboxílico o de la amina y que no son indeseables biológicamente o de otra manera alguna. Para una descripción de las amidas farmacéuticamente aceptables como prodrogas, ver Bundgaard, H., ed., *supra*. Estas amidas se forman típicamente a partir de correspondiente ácido carboxílico y una amina. Generalmente, la formación de la amida puede lograrse por técnicas sintéticas convencionales. Ver, por ejemplo, March *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., p. 1152 (John Wiley & Sons, New York 1985) y las referencias allí citadas, y Mark *et al.*, *Encyclopedia of Chemical Technology*, (1980) John Wiley & Sons, New York). La presente invención también contempla el uso de esas composiciones que también son amidas y que se describen aquí y

que al mismo tiempo son sales de adición de las mismas, farmacéuticamente aceptables.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5 (1) General

La presente invención está dirigida al uso de derivados de ácido (-) (3-trihalometilfenoxi) (4-halofenilo) acético que tienen la siguiente fórmula general:

10

En la fórmula I, R es un grupo funcional que incluye, pero no se limita a, los siguientes: hidroxil, aralcoxi inferior, por ejemplo, fenil alcoxi-inferior tal como el benzoiloxi, fenetiloxi,; alquilamino diinferior-alcoxi inferior y las sales de adición no tóxicas, farmacológicamente aceptables de los mismos, por ejemplo, dimetilaminoetoxi, dietilaminoetoxi clorhidrato, dietilaminoetoxi citrato, dietilaminopropoxi; alcanamido inferior alcoxi inferior, por ejemplo, formamidoetoxi, acetamidoetoxi o acetamidopropoxi; benzamido inferior alcoxi, por ejemplo, benzamidoetoxi o benzamidopropoxi; ureido inferior alcoxi, por ejemplo, ureidoetoxi ó 1-metil-2-ureidoetoxi; N'-alquilo inferior-ureido inferior alcoxi, esto es, R¹-NH-CONH-C_nH_{2n}-O-, en donde R¹ representa alquilo inferior y n es un entero que tiene un valor de 1 a aproximadamente 5, por ejemplo, N'-etil-ureidoetoxi ó N'-etil-ureidopropoxi; carbamoil alcoxi inferior, por ejemplo,

carbamoilmetoxi o carbamoiletoxi; alcoxi inferior sustituido con halofenoxi, por ejemplo, 2-(4-clorofenoxi)etoxi ó 2-(4-clorofenoxi)-2-etilpropoxi; fenoxi carbamoil sustituido, por ejemplo, 2-carbamoilfenoxi; carboxi alquilamino inferior y las sales no tóxicas, farmacológicamente aceptables de los mismos, por ejemplo, la sal carboximetilamino ciclohexilamina o carboxietilamina; N,N-alquilamino di-inferior y las sales no tóxicas, farmacológicamente aceptables de los mismos, por ejemplo, N,N-dimetilaminoetilamino clorhidrato, N,N-dietilaminoetilamino, N,N-dietilaminoetilamino citrato, ó N,N-dimetilaminopropilamino citrato; alquilamino inferior halosustituido, por ejemplo, 2-cloroetilamino ó 4-clorobutilamino; alquilamino inferior hidroxí sustituido, por ejemplo, 2-hidroxietilamino ó 3-hidroxipropilamino; alquilamino inferior sustituido con alcaniloxi inferior, por ejemplo, acetoxietilamino o acetoxipropilamino; ureido; alcóxicarbonilamino inferior, por ejemplo metoxiacarbonilamino (esto es, -NHCOOCH_3), ó etóxicarbonilamino (esto es, $\text{CHCOOC}_2\text{H}_5$). En una modalidad preferida, R es seleccionado tal que es una unidad estructural hidrolizable, tal como un éster o una amida, y por hidrólisis del enlace éster o amida, el compuesto es biológicamente activo tal como ésteres o amidas farmacéuticamente aceptables como prodrogas. X, en la fórmula I, es un halógeno, por ejemplo, cloro, bromo, flúor o yodo.

En una modalidad preferida, la presente invención se relaciona con el uso de los derivados del ácido (-) (3-trihalometilfenoxi)(4-halofenil)acético que tiene la fórmula general:

En la Fórmula II, R^2 es un grupo funcional que incluye, pero no se limita a, los siguientes: hidrógeno, fenil alquilo inferior, por ejemplo, benzilo; alcanamido inferior-alquilo inferior, por ejemplo, acetamidoetilo; o
5 benzamido-alquilo inferior, por ejemplo, benzamidoetilo. X, en la fórmula II, es un halógeno, por ejemplo, cloro, bromo, flúor o yodo.

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

10

El compuesto de la fórmula III es referido como "acetato (-) 2- acetamidoetil
15 4- clorofenilo- (3- trifluorometil fenoxi)" (también referido como "(-) halofenato").

Los cambios en el metabolismo de drogas mediados por la inhibición la enzima del citocromo P450 tienen un muy alto potencial para precipitar significativamente efectos adversos en pacientes. Tales efectos se notaron
20 previamente en pacientes tratados con halofenato racémico. En el presente estudio, se encontró que el ácido halofénico racémico inhibía el citocromo P450 2C9, una enzima conocida por jugar un papel significativo en el metabolismo de drogas específicas. Esto puede llevar a problemas
25 antiinflamatorios y otras drogas metabolizadas por esta enzima. Sin embargo, bastante sorprendentemente, una diferencia sustancial se observó

entre los enantiómeros del ácido halofénico en su inhabilidad para inhibir el citocromo P450 2C9, el (-) enantiómero siendo alrededor de veinte veces menos activo en donde el (+) enantiómero fue bastante potente (véase ejemplo 7). Así, el uso de los compuestos (-) enantiómero de Fórmula I, 5 Fórmula II ó Fórmula III evitaría la inhibición de esta enzima y los efectos adversos sobre el metabolismo de drogas previamente observados con el halofenato racémico.

La presente invención abarca un método de modulación de resistencia a la insulina en mamíferos, el método comprende: administración al mamífero 10 de cantidades efectivas terapéuticas de un compuesto que tiene una estructura general de Fórmula I ó una sal de éste farmacéuticamente aceptable. En una modalidad preferida presentemente, el compuesto tuvo la estructura general de Fórmula II. En una modalidad adicional preferida, el compuesto tuvo la estructura de Fórmula III. Bastante sorpresivamente, 15 el método evita los efectos adversos asociados con la administración de una mezcla racémica de halofenato para suministrar una cantidad de (-) estereoisómero de los compuestos en Fórmula I, Fórmula II ó Fórmula III lo cual es insuficiente para causar efectos adversos asociados con la inhibición de Citocromo P450 2C9.

20 La presente invención también abarca un método de modulación de diabetes Tipo 2 en mamíferos, comprendiendo el método: administración al mamífero de una cantidad efectiva terapéuticamente de un compuesto que tiene la estructura general de Fórmula I o una sal de éste aceptable farmacéuticamente. En una modalidad preferida actualmente, el 25 compuesto tiene la estructura general de la Fórmula II. En una modalidad adicional preferida, el compuesto tiene la estructura de Fórmula III.

Bastante sorprendentemente, el método evita los efectos adversos asociados con la administración de mezcla racémica de halofenato al suministrar una cantidad de los (-) esteroisómeros de los compuestos en la Fórmula I, Fórmula II ó Fórmula III la cual es insuficiente para causar efectos adversos asociados con la inhibición del citocromo P450 2C9.

La mezcla racémica del halofenato (esto es, la mezcla racémica 1:1 de los dos enantiómeros) posee actividad antihiperlipidémica y suministra terapia y una reducción de la hiperlipidemia relacionada a diabetes cuando se combina con otras ciertas drogas comúnmente usadas para tratar estas enfermedades. Sin embargo, esta mezcla racémica, mientras que ofrece la expectativa de eficacia, causa efectos adversos. El término "efectos adversos" incluye, pero no está limitado a, náusea, úlceras gastrointestinales y sangrado intestinal. Otro efecto intestinal que ha sido reportado con el halofenato racémico incluye problemas potenciales con interacciones droga-droga, incluyendo especialmente dificultades que controlan la anticoagulación con Coumadin™. Utilizando el compuesto sustancialmente puro de la presente invención se logran más claras definiciones de dosis con relación a eficacia, se disminuyen los efectos adversos, y en consecuencia, se obtiene un índice terapéutico mejorado. Como tal, ha sido ahora descubierto que es más deseable y ventajoso administrar el (-) enantiómero de halofenato en vez del halofenato racémico.

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

Muchos compuestos orgánicos existen en formas activas ópticamente, esto es, ellos tienen la habilidad para rotar el plano de luz polarizada plana. Al describir un compuesto ópticamente activo, los prefijos R y S son usados para denotar la configuración absoluta de la molécula acerca de su centro quiral. Los prefijos "d" y "l" o (+) y (-) son empleados para designar el signo de rotación del plano de luz polarizada por el compuesto, con (-) ó l significando que el compuesto es levorrotatorio y con (+) ó d significa que el compuesto es dextrorrotatorio. No hay correlación entre nomenclatura para la estequiometría absoluta y para la rotación de un enantiómero. Para una estructura química dada, estos compuestos llamados "estereoisómeros", son idénticos excepto ellos son la imagen especular uno del otro. Un estereoisómero específico puede también ser referido como un "enantiómero", y una mezcla de tales isómeros es a menudo llamado un enantiomérico o mezcla racémica. Véase, por ejemplo, Streitwieser, A. & Heathcock, C.H., INTRODUCTION TO ORGANIC CHEMISTRY, 2nd Edition, Chapter 7 (MacMillan Publishing Co., U.S.A. 1981).

La síntesis química de la mezcla racémica de los halofenatos derivados del ácido acético(3-trihalometilfenoxi) (4-halofenilo) pueden ser compuestos por los métodos descritos en la Patente U.S. No. 3,517,050, cuyos detalles son incorporados aquí por referencia. La síntesis de los compuestos de la presente invención es descrita posteriormente en los ejemplos, *supra*. Los enantiómeros individuales puede ser obtenidos por resolución de la mezcla racémica de enantiómeros usando medios convencionales conocidos y ser usados por los versados en la técnica. Ver, por ejemplo, Jaques, J., et al., en ENANTIOMERS, RACEMATES AND RESOLUTIONS, John Wiley and Sons, New York (1981). Otros métodos estándar de resolución conocidos para los

245 ~~56~~
248

versados en la técnica, que incluyen mas no se limitan a la cristalización simple y la resolución cromatográfica, pueden usarse también (ver, por ejemplo, STEREOCHEMISTRY OF CARBON COMPOUNDS (1962) E.L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, *J. Chromatography* (1975) 113, 282-302).

5 Adicionalmente, los compuestos de la presente invención, es decir, los isómeros ópticamente puros, pueden prepararse a partir de la mezcla racémica mediante resolución biocatalítica enzimática; La resolución biocatalítica enzimática ha sido descrita previamente (ver, por ejemplo, Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,057,427 y 5,077,217, cuyas
10 descripciones se incorporan aquí como referencia). Otros métodos para obtener enantiómeros incluyen la síntesis estereoespecífica (ver, por ejemplo, Li, A.J. *et al.*, *Pharm. Sci.* (1997) 86:1073-1077).

El término "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)", conforme aquí se usa, significa que la composición contiene una proporción
15 sustancialmente mayor del isómero (-) del halofenato en relación con el isómero (+). En una modalidad preferida, el término "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)"2 conforme aquí se usa, significa que la composición tiene al menos el 90% en peso del isómero (-) y 10% en peso del isómero (+). En una modalidad más preferida, el término
20 "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)", conforme aquí se usa, significa que la composición tiene al menos el 99% en peso del isómero (-) y 1% en peso o menos del isómero (+). En la modalidad más preferida, el término "sustancialmente libre de su estereoisómero (+)" significa que la composición tiene al menos el 99% en peso del isómero (-). Estos
25 porcentajes están basados en la cantidad total de halofenato en la composición. Los términos "isómero de halofenato sustancialmente puro

ópticamente (1)", "halofenato sustancialmente puro ópticamente (1)", "isómero de halofenato ópticamente puro (1)" y "halofenato ópticamente puro (1)", se refieren todos al isómero (-) y están comprendidos en las cantidades antes descritas. Además, los términos "isómero de halofenato sustancialmente puro ópticamente (d)", "halofenato sustancialmente puro ópticamente (d)", "isómero de halofenato ópticamente puro (d)" y "halofenato ópticamente puro (d)", se refieren todos al isómero (+) y están comprendidos por las cantidades antes descritas.

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

(3)Terapia de combinación con agentes activos adicionales

Las formulaciones pueden formularse y administrarse de la misma forma descrita más adelante. "Formulación" se define como una preparación farmacéutica que contiene una mezcla de diversos excipientes e ingredientes clave que proveen una forma relativamente estable, deseable y útil de un compuesto o droga. Para la presente invención, "Formulación" está incluida en el significado del término "composición". Los compuestos de la presente invención pueden usarse con efectividad solos o en combinación con uno o más agentes activos adicionales dependiendo de la terapia objetivo deseada (ver, por ejemplo, Turner, N., *et al. Prog.Drug Res.* (1998)51:33-94; Haffner, S. *Diabetes Care* (1998)21:160-178; y DeFronzo, R. *et al. (eds.), Diabetes Reviews* (1997) Vol.5 No.4). Una variedad de

estudios ha investigado los beneficios de las terapias de combinación con Agentes orales (ver, por ejemplo, Mahler, R., *J.Clin.Endocrinol.Metab.*(1999)84:1165-71; United Kingdom Prospective Diabetes Study Group; UKPDS 28, *Diabetes Care* (1998)21:87-92; Bardin, C.W., (ed.), *CURRENT THERAPY IN ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM*, 6th Edition (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(12^a):3U-17U). Estos estudios indican que la modulación de la diabetes y de la hiperlipidemia puede mejorarse con la adición de un segundo agente al régimen terapéutico. La terapia de combinación incluye la administración de una dosis de una Formulación farmacéutica sencilla 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 Fórmula II o Fórmula III) y cada agente activo está en su propia Formulación de dosis farmacéutica separada. Por ejemplo, un compuesto de la Fórmula I y un inhibidor de HMG-CoA reductasa pueden administrarse juntos a un sujeto humano en una Formulación de dosis oral sencilla, tal como una tableta o cápsula, o cada agente puede administrarse en Formulaciones de dosis separadas orales simples. Cuando se usan Formulaciones de dosis separadas, un compuesto de Fórmula I y uno o más agentes activos adicionales pueden administrarse esencialmente al mismo tiempo (esto es, concurrentemente), o en momentos

separadamente definidos (esto es, secuencialmente). Se entiende que la terapia de combinación incluye todos estos regímenes.

Un ejemplo de terapia de combinación que modula (previene el inicio de los síntomas o complicaciones asociados) la aterosclerosis, en donde un

5 compuesto de Fórmula I se administra en combinación con uno o más de los siguientes agentes: un agente antihiperlipidémico; un agente elevador del HDL en plasma; un agente antihipercolesterolémico, tal como un inhibidor de la biosíntesis de colesterol, por ejemplo, un inhibidor de la hidroximetilglutaril (HMG) CoA reductasa (también conocidas como

10 estatinas, tales como la lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina y atorvastatina), un inhibidor de HMG-CoA sintasa, un inhibidor de escualeno epoxidasa, o un inhibidor de escualeno sintetasa (también conocido como inhibidor de escualeno sintasa); un inhibidor de acil-coenzima A colesterol aciltransferasa (ACAT), tal como la melinamida;

15 probucol; ácido nicotínico y sales del mismo y niacinamida; un inhibidor de absorción de colesterol, tal como el β -sitosterol; una resina de intercambio aniónico secuestrante de ácidos biliares, tal como la colestiramina, colestipol o dialquilaminoalquil derivados de un dextrano entrecruzado; un inductor receptor LDL (lipoproteína de baja densidad);

20 fibrados, como clofibrato, bezafibrato, fenofibrato y gemfibrizol; vitamina B6 (también conocida como piridoxina) y sales farmacéuticamente aceptables de la misma, tal como la sal HCl; vitamina B₁₂ (también conocida como cianocobalamina); vitamina B₃ (también conocida como ácido nicotínico y niacinamida, *supra*); vitaminas antioxidantes, tales como

25 vitaminas C y E y β -caroteno; un beta-bloqueador; un antagonista de la angiotensina II; un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina;

y un inhibidor de la agregación de plaquetas, tales como los antagonistas receptores del fibrinógeno (esto es, antagonistas del receptor de fibrinógeno de la glicoproteína IIb/IIIa) y aspirina. Como se indicó anteriormente, los compuestos de Fórmula I pueden ser administrados en combinación con
5 más de un agente activo adicional, por ejemplo, una combinación de un compuesto de la Fórmula I con una inhibidor de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, lovastatina, simvastatina y pravastatina) y aspirina, o un compuesto de Fórmula I con inhibidor de HMG-CoA reductasa y un bloqueador β .

10 Otro ejemplo de terapia de combinación puede verse al tratar la obesidad o desórdenes relacionados con la obesidad, en donde los compuestos de la Fórmula I pueden usarse efectivamente en combinación con, por ejemplo, fenilpropanolamina, fentermina, dietilpropion, mazindol; fenfluramina, dexfenfluramina, fentiramina, agentes agonistas del adrenoceptor β_3 ;
15 sitramina, inhibidores de lipasa gastrointestinal (tales como el orlistato), y leptina. Otros agentes usados en el tratamiento de la obesidad o de desórdenes relacionados con la obesidad en donde los compuestos de la Fórmula I pueden usarse efectivamente en combinación con, por ejemplo, neuropéptido Y, enterostatina, colecitoquinina, bombesina, amilina,
20 receptores de histamina H_3 , receptores de dopamina D_2 , hormona estimuladora de melanocitos, factor liberador de la corticotrofina, galanina y ácido gamma amino butírico (GABA).

Aún otro ejemplo de terapia de combinación puede verse en la modulación de la diabetes (o tratamiento de la diabetes y sus síntomas, complicaciones
25 y desórdenes relacionados), en donde los compuestos de la Fórmula I pueden usarse efectivamente en combinación con, por ejemplo,

sulfonilúreas (tales como la clorpropamida, tolbutamida, acetohexamida, tolzamida, gliburida, gliclazida, glinasa, glimepirida, y glipizida), biguanidas (tales como la metformina), tiazolidindionas (tales como la ciglitazona, pioglitazona, troglitazona y rosiglitazona);

5 deshidroepiandrosterona (también denominada como DHEA o su éster sulfato conjugado, DHEA-SO₄); antiglucocorticoides; inhibidores de TNF α ; inhibidores de α -glucosidasa (tales como la acarbosa, miglitol y voglibosa), pramlintida (un análogo sintético de la hormona humana amilina), otros secretagogos de insulina (tales como la repaglidina, gliquidona y
10 nateglinida), insulina, así como los agentes activos discutidos anteriormente para el tratamiento de la aterosclerosis.

Un ejemplo adicional de la terapia de combinación puede verse en la modulación de la hiperlipidemia (tratamiento de la hiperlipidemia y sus complicaciones relacionadas), en donde los compuestos de la Fórmula I
15 pueden usarse efectivamente en combinación con, por ejemplo, estatinas (tales como fluvastatina, lovastatina, pravastatina o simvastatina), resinas enlazantes de ácidos biliares (tales como colestipol o colestiramina), ácido nicotínico, probucol, betacaroteno, vitamina E o vitamina C.

De acuerdo con la presente invención, una cantidad terapéuticamente
20 efectiva de un compuesto de la Fórmula I (o Fórmula II o Fórmula II) puede usarse para la preparación de una composición farmacéutica útil para el tratamiento de la diabetes, tratamiento de la hiperlipidemia, tratamiento de la obesidad, disminución de los niveles de triglicéridos, disminución de los niveles de colesterol, elevación del nivel de lipoproteína de alta
25 densidad en el plasma, y para el tratamiento, prevención o reducción del riesgo de desarrollar aterosclerosis.

251 252

Adicionalmente, una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula I (o Fórmula II o Fórmula III) y una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más agentes efectivos seleccionados del grupo consistente de: un agente
5 hiperlipidémico,; un agente elevador de HDL en el plasma; un agente antihipercolesterolémico, tal como un inhibidor de la biosíntesis de colesterol, por ejemplo, un inhibidor de la HMG-CoA reductasa, un inhibidor de la HMG-CoA sintasa, un inhibidor de escualeno epoxidasa, o un inhibidor de escualeno sintetasa (también conocido como inhibidor de
10 escualeno sintasa); un inhibidor de la acil-coenzima A colesterol aciltransferasa; probucol; ácido nicotínico y las sales del mismo; niuacinamida; un inhibidor de absorción de colesterol; una resina de intercambio aniónico secuestrante de ácidos biliares; un inductor receptor de lipoproteína de baja densidad; clofibrato, fenofibrato y gemfibrozil;
15 vitamina B₆ y las sales farmacéuticamente aceptables de la misma; vitamina B₁₂; una vitamina antioxidante; un bloqueador β ; un antagonista angiotensina II; un inhibidor de la enzima convertidora del angiotensina; un inhibidor de la agregación de plaquetas; un antagonista receptor de fibrinógeno; aspirina; fentiraminas; agonistas del receptor β_3 adrenérgico;
20 sulfonilúreas, biguanidas, inhibidores de α -glucosidasa, otros secretogogos de insulina, e insulina, pueden ser usados juntos para la preparación de una composición farmacéutica útil para los tratamientos antes descritos.

(4) Formulaciones farmacéuticas y métodos de administración

82
252255

En los métodos de la presente invención, los compuestos de Fórmula I, Fórmula II y Fórmula III pueden ser aplicados o administrados a un mamífero, por ejemplo, un paciente o sujeto humano, solos, en forma de una sal farmacéuticamente aceptables o precursores hidrolizables de los mismos, o en forma de una composición farmacéutica en donde el compuesto está mezclado con transportadores o excipientes adecuados en una cantidad terapéuticamente efectiva. Por una "dosis terapéuticamente efectiva", "cantidad terapéuticamente efectiva" ó, intercambiamente, "dosis farmacológicamente aceptable" o "cantidad farmacológicamente aceptable", se quiere decir que una cantidad suficiente de un compuesto de la presente invención, alternativamente, una combinación, por ejemplo, un compuesto de la presente invención, que está sustancialmente libre de su estereoisómero (+), y un transportador farmacéuticamente aceptable, se presentarán para alcanzar un resultado deseado, por ejemplo, aliviar un síntoma o complicación de la diabetes Tipo 2.

Los compuestos de la Fórmula I, Fórmula II y Fórmula III que se usan en los métodos de la presente invención, pueden incorporarse en una variedad de Formulaciones para administración terapéutica. Más particularmente, los compuestos de la Fórmula I (o Fórmula II o Fórmula III) pueden formularse en composiciones farmacéuticas por combinación con transportadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables, y pueden formularse en preparaciones en formas sólidas, semi-sólidas, líquidas o gaseosas, tales como tabletas, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, grageas, geles, pastas, ungüentos, soluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes y aerosoles. Como tales, la administración de los compuestos puede lograrse de varias formas, incluyendo administración oral, bucal,

253 5/25/0

rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, intratraqueal. Además, el compuesto puede ser administrado en forma más bien local que sistémica, en una Formulaci3n de reserva o de liberaci3n sostenida. Adem3s, los compuestos pueden ser administrados en un liposoma.

Adicionalmente, los compuestos de F3rmula I, F3rmula II o F3rmula III pueden Formularse con excipientes, diluyentes o transportadores comunes, y comprimidos en tabletas o formulados como el3xires o soluciones para una conveniente administraci3n oral, o administrados por rutas intramusculares o intravenosas. Los compuestos pueden administrarse transdérmicamente, y pueden formularse en formas de dosificaci3n de liberaci3n sostenida y similares.

Los compuestos de la F3rmula I, F3rmula II o F3rmula III pueden administrarse solos, en combinaci3n uno con otro, o pueden usarse en combinaci3n con otros compuestos conocidos (discutidos *supra*). En formas de dosificaci3n farmac3utica, los compuestos pueden administrarse en la forma de sus sales farmac3uticamente aceptables. Pueden contener unidades estructurales hidrolizables. Tambi3n pueden ser usados solos as3 como en combinaci3n con otros compuestos farmac3uticamente activos.

Formulaciones apropiadas para su uso en la presente invenci3n se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company (1985) Philadelphia, PA, 17th ed.), que se incorpora aqu3 como referencia. Adem3s, para una breve revisi3n de los m3todos para aplicaci3n de drogas, ver Langer, Science (1990)249:1527-1533, que se incorpora aqu3 como referencia: Las composiciones farmac3uticas descritas aqu3 pueden manufacturarse en formas que son conocidas para

64
254 257

los versados en la técnica, esto es, por medios convencionales de procesos de mezclado, disolución, granulación, hechura de grageas, levigación, emulsificación, encapsulamiento, atrapamiento o liofilización. Los siguientes métodos y excipientes son apenas ejemplos y no son limitantes de manera alguna.

5 Para inyección, los compuestos pueden formularse en preparaciones por disolución, suspensión o emulsificación en un solvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, glicéridos de ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; 10 y si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsificantes, estabilizadores y preservativos. Preferiblemente, los compuestos de la presente invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferiblemente en reguladores fisiológicamente compatibles tales como 15 solución de Hank, solución de Ringer, o regulador salino fisiológico. Para administración transmucosa, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera que va a ser permeada. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

Para administración oral, los compuestos de la Fórmula I, Fórmula II ó 20 Fórmula III pueden formularse fácilmente combinándolos con transportadores farmacéuticamente aceptables que son bien conocidos en la técnica. Tales transportadores permiten que los compuestos sean formulados como tabletas, píldoras, grageas, cápsulas, emulsiones, suspensiones lipofílicas e hidrofílicas, líquidos, geles, jarabes, pastas, 25 suspensiones y similares, para ingestión oral por parte del paciente que va a ser tratado. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden

65
255 258

obtenerse mezclando los compuestos con un excipiente sólido, moliendo
opcionalmente una mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos,
después de añadir auxiliares adecuados, si se desea, para obtener tabletas
o núcleos para grageas. Los excipientes adecuados son en particular,
5 rellenos tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o
sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de
maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de papa, gelatina, goma
tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, carboximetilcelulosa
de sodio, y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse
10 agentes desintegrantes, tales como la polivinilpirrolidona entrecruzada,
agar ó ácido alginico o una sal del mismo tal como alginato de sodio.

Se proveen núcleos para grageas con recubrimientos adecuados. Para este
propósito, pueden usarse soluciones concentradas de azúcar, que pueden
contener opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel
15 carbopol, polietilenglicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de lacado, y
solventes orgánicos o mezclas de solventes adecuados. Pueden añadirse
tinturas o pigmentos a las tabletas o recubrimientos de grageas para
identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de
compuestos activos.

20 Las preparaciones farmacéuticas que pueden usarse oralmente pueden
incluir cápsulas de dos cuerpos hechas de gelatina, así como cápsulas
suaves selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o
sorbitol. Las cápsulas de dos cuerpos pueden contener los ingredientes
activos en mezcla con rellenos tales como lactosa, enlazantes tales como
25 almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y,
opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas suaves, los compuestos

88
250259

activos pueden estar disueltos o suspendidos en líquidos apropiados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, pueden añadirse estabilizantes. Todas las Formulaciones para administración oral deben estar en dosis adecuadas para tal

5 administración.

Para administración bucal, la composición puede tomar la forma de tabletas o cápsulas formuladas de manera conveniente.

Para administración por inhalación, los compuestos para uso de acuerdo a la presente invención son liberados convenientemente en la forma de una

10 presentación en aerosol de aspersión desde empaques presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor apropiado, *por ejemplo*, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otros gases apropiados, o de inhaladores de polvo seco, libres de propulsantes. En el caso de un aerosol presurizado la

15 unidad de dosis puede ser determinada suministrando una válvula para liberar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, *por ejemplo*, gelatina para uso en un inhalador o insuflador pueden ser formuladas conteniendo un polvo mixto de los compuestos y un apropiado polvo base tal como lactosa o almidón.

20 Los compuestos pueden ser formulados por administración parenteral por inyección, *por ejemplo*, por inyección por bolos o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden ser presentadas en forma de dosis unitarias, *por ejemplo*, en ampollas o en contenedores multiusos, con un preservativo adicionado. Las composiciones pueden tomar formas tales

25 como suspensiones, soluciones o emulsiones en aceite o vehículos acuosos

257 260

y pueden contener agentes formuladores tales como agentes de suspensión estabilizantes y/o agentes dispersantes.

Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua.

- 5 Adicionalmente, las suspensiones de los compuestos activos pueden ser preparados tan apropiadamente suspensiones de inyecciones aceitosas. Solventes lipofílicos apropiados o vehículos que incluyen ácidos grasos tal como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tal como oleato de etilo, o triglicéridos, o liposomas. Suspensiones de inyecciones
- 10 acuosas pueden contener sustancias las cuales incrementan la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetil celulosa de sodio, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, las suspensiones pueden contener también estabilizadores o agentes apropiados los cuales incrementan la solubilidad para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.
- 15 Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para la constitución con un vehículo apropiado, *por ejemplo*, agua estéril libre de pirógenos, antes del uso.

- Los compuestos pueden también ser formulados en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, *por ejemplo*, supositorio
- 20 convencional que contiene bases tales como mantequilla de cacao, carboceras, polietilen glicoles, u otros glicéridos, todos los cuales se encuentran a temperatura ambiente, están aun solidificados a temperatura ambiente.

- Además de las formulaciones descritas previamente, los compuestos
- 25 pueden ser también formulados como una preparación de reserva. Tales formulaciones que actúan largamente pueden ser administradas por

258 26f

implantación (por ejemplo subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos pueden ser formulados con materiales hidrofóbicos o poliméricos apropiados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados ligeramente solubles, por ejemplo, como una sal ligeramente soluble.

Alternativamente, otros sistemas de liberación para compuestos farmacéuticamente hidrofóbicos pueden ser empleados. Los liposomas y emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de liberación o transportadores para drogas hidrofóbicas. En una modalidad preferida actualmente pueden ser empleados liposomas de larga circulación, esto es, de precaución. Tales liposomas son generalmente descritos en Woodle, et al., U.S. Patente No. 5,013, 556, cuyo detalle está incorporado aquí por referencia. Los compuestos de la presente invención pueden también ser administrados por medio de liberación controlada y/o dispositivos de liberación tal como aquellos descritos en las Patentes U.S. Nos. 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123; y 4,008,719; cuyas descripciones se incorporan aquí como referencia.

Ciertos solventes orgánicos tales como el dimetilsulfóxido (DMSO) pueden emplearse también, aunque usualmente con el costo de una gran toxicidad. Adicionalmente, los compuestos pueden ser administrados usando un sistema de liberación sostenida, tal como matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido diversos tipos de materiales para liberación sostenida y son bien conocidos por los versados en la técnica. Las cápsulas de liberación sostenida puede, dependiendo de su naturaleza

259 262

química, liberar los compuestos por unas pocas horas hasta por más de 1090 días.

Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender transportadores o excipientes adecuados en fase sólida o gel. Ejemplos de
5 tales transportadores o excipientes incluyen pero no se limitan a carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas apropiadas para su uso en la presente invención incluyen composiciones en donde los ingredientes activos
10 estaban contenidos en una cantidad terapéuticamente efectiva. La cantidad de composición administrada dependerá, desde luego, del sujeto que está siendo tratado y del juzgamiento del médico que prescribe. La determinación de una cantidad efectiva cae bien dentro del dominio de los versados en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada
15 provista aquí.

Para cualquier compuesto usado en el método de la presente invención, una dosis terapéuticamente efectiva puede ser estimada inicialmente a partir de ensayos con cultivos de células o modelos animales.

Además, la toxicidad y eficacia terapéutica de los compuestos aquí
20 descritos pueden ser determinadas por procedimientos farmacéuticos estándares cultivos de células o animales experimentales, por ejemplo, determinando la LD₅₀, (la dosis letal al 50% de la población) y la ED₅₀ (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entra el efecto tóxico y el terapéutico es el índice terapéutico y puede
25 expresarse como la relación entre LD₅₀ y ED₅₀. Los compuestos que exhiben altos índices terapéuticos son preferidos. Los datos obtenidos a

70
260 260

partir de estos ensayos con cultivos de células y los estudios animales pueden usarse para formular un rango de dosificación que no es tóxico para su uso en humanos. La dosificación de tales compuestos cae preferiblemente dentro de un rango de concentraciones circulantes que incluyen la ED₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y la ruta de administración empleada. La formulación, ruta de administración y dosificación exactas pueden escogerse por parte del médico individual a la vista de la condición del paciente. (véase, por ejemplo, Fingl *et al.* 1975 In: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Ch.1).

La cantidad de compuesto activo que puede ser combinada con un material transportador para producir una forma de dosificación sencilla, variará dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero y el modo particular de administración. Sin embargo, como una guía general, dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden, por ejemplo, contener preferiblemente entre 100 mg hasta aproximadamente 3000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida está entre 500 mg hasta aproximadamente 1500 mg. Una dosis unitaria más preferida está entre 500 hasta aproximadamente 1000 mg. Tales dosis unitarias pueden ser administradas más de una vez al día, por ejemplo 2, 4, 4, 5 ó 6 veces al día, pero preferiblemente 1 ó 2 veces por día, de forma que la dosificación diaria total para un adulto de 70 kg está en el rango de 0.1 a aproximadamente 250 mg por kg de peso del sujeto por administración, y tal terapia puede extenderse por un cierto número de semanas o meses, y en algunos casos, por años. Se entenderá, sin

261 264

embargo, que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del individuo que está siendo tratado; del tiempo y ruta de administración; la rata de excreción; otras drogas que hayan sido administradas previamente; y la severidad de la enfermedad particular que se halla bajo terapia, tal como será entendido por los versados en la técnica.

Una dosificación típica puede ser de una tableta de 10 hasta aproximadamente 1500 mg tomada una vez al día, o múltiples veces al día, o una cápsula o tableta de liberación con el tiempo tomada una vez al día y que contiene un título proporcionalmente más alto de ingrediente activo. El efecto de liberación con el tiempo puede obtenerse con materiales de la cápsula que se disuelven a diferentes valores de pH, con cápsulas que liberan lentamente por presión osmótica, o por cualquier otro medio conocido de liberación controlada.

Puede ser necesario usar dosificaciones por fuera de estos rangos en algunos casos como será evidente para los versados en la técnica. Además, se anota que el médico o clinicista que hace el tratamiento sabrá como y cuando interrumpir, ajustar, o terminar la terapia en conjunción con la respuesta del paciente individual.

(5) Grupos protectores

Ciertos compuestos que tienen la estructura general de Fórmula I y II pueden requerir el uso de ciertos grupos protectores para permitir su elaboración exitosa dentro de la estructura deseada. Los grupos

72 263

protectores pueden ser escogidos con referencia a Greenne, T.W., *et al.*, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc., 1991. Los grupos bloqueados son removibles fácilmente, esto es, pueden ser removidos, si se desea, por procedimientos los cuales no causarían rompimiento u otros trastornos sobre las porciones que quedan de la molécula. Tales procedimientos incluyen hidrólisis química y enzimática, tratamiento con ión fluoruro, tratamiento con un metal de transición catalizador y un nucleófilo, e hidrogenación catalítica.

Ejemplos de grupos protectores hidroxilo apropiados son: Trimetilsililo, trietilsililo, o-nitrobenziloxycarbonilo, p-nitrobenziloxycarbonilo, t-butildifenilsililo, butildimetilsililo, benziloxycarbonilo, t-butiloxycarbonilo, 2,2,2-tricloroetiloxycarbonilo, y aliloxycarbonilo. Ejemplos de grupos protectores carboxilo apropiados son benzidrilo, o-nitrobenzilo, 2-naftilmetilo, alilo, 2-cloroalilo, benzilo, 2,2,2-tricloroetilo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, 2-etil(trimetilsililo), fenacilo, p-metoxibenzilo, acetonoilo, p-metoxifenilo, 4-piridilmetilo y t-butilo.

(6)Procesos

Los procesos para la fabricación de los compuestos de la presente invención son descritos generalmente en los esquemas 1 y 2 (y descritos posteriormente en los Ejemplos):

Esquema 1:

73
263 266

5

Esquema 2:

10

15

De acuerdo al Esquema 2, un ácido acético fenilo sustituido es convertido a un derivado del ácido activado (por ejemplo, ácido clorhídrico) seguido por halogenación del carbono alfa. La porción de la molécula del ácido activado es reactiva con un nucleófilo (por ejemplo,, N-acetiletanolamina) para proveer un ácido protegido. El ácido halogenado protegido es tratado con un fenol sustituido (por ejemplo, 3-trifluorometilfenol) produciendo el producto deseado.

Los estereoisómeros de los compuestos de la presente invención pueden ser preparados usando reaccionantes o reactivos o catalizadores en su forma enantiomérica simple en cualquier momento en el proceso o por

264 74268

resolución de la mezcla de estereoisómeros por métodos convencionales, discutidos en los ejemplos *supra*. Algunos de los métodos preferidos incluso uso de resolución microbiana, resolviendo las sales diasteroméricas formadas con ácidos quirales o bases quirales y usando
5 cromatografía de soportes quirales.

(7) Juegos

Además, la presente invención suministra juegos con dosis unitarias de los compuestos de Fórmula I, Fórmula II, o Fórmula III ya sea en dosis
10 inyectable u oral. Además de los contenedores que contienen las dosis unitarias habría un paquete informativo inserto que describiría el uso y beneficios concomitantes de las drogas en aliviar los síntomas y/o las complicaciones asociadas con las diabetes Tipo 2 así como en aliviar la hiperlipidemia. Los compuestos preferidos y unidades de dosis son
15 aquellos descritos anteriormente.

EJEMPLOS

Los compuestos de Fórmula I, Fórmula II, ó Fórmula III de la presente
20 invención pueden ser preparados fácilmente usando el conjunto de procesos en el esquema 1, *Supra*, y a partir de los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 1

25 Este ejemplo se relaciona con la preparación de Acetato de Metil Bromo-(4-clorofenilo)

265 759
269

5

El compuesto inicial listado en el esquema 1, es decir, ácido 4-clorofenilacético, es disponible fácilmente a partir de varias fuentes comerciales (*por ejemplo*, Aldrich y Fluka).

Un reactor de 5L Morton equipado con un agitador magnético, un control
10 de temperatura de inmersión, y un embudo de adición fueron ventilados a través de un depurador de gas y cargado con ácido p-clorofenilacético (720 gm, 4,2 moles) y SOCl_2 (390 ml, 630 gm, 5,3 moles). La reacción fue agitada, calentada y mantenida a $55^\circ \pm 5^\circ\text{C}$ por una hora. Después de 20 min. se adicionó bromuro (220 ml., 670 gm, 5.3 moles) y se
15 agitó a $55^\circ \pm 5^\circ\text{C}$ durante 16 horas. La temperatura alcanzó los 80°C durante 7 horas y entonces se enfrió a 9°C en un baño agua-hielo. Se adicionó cuidadosamente metanol (2.0L, 1.6kg, 49.4 moles). El solvente fue eliminado para obtener 2 líquidos con peso de 1.28 kg. Estos fueron disueltos en una mezcla de 0.84L de agua y 2.1 L de éter y separados. La
20 fase orgánica fue lavada una vez con 0.78 L 25% (peso:peso) de cloruro de NaCl acuoso y secado sobre 0.13 kg de MgSO_4 . Este fue filtrado a través de papel de filtro Whatman No1 y liberado del solvente para obtener 0.985 kg de líquido naranja. La NMR protónica mostró que éste es 80% de producto y 19% de éster no brominado. La HPLC mostró 82% de producto
25 y 18% de éster no brominado. La HPLC fue corrida en una columna Zorbax SB-C8 a 30° de medida 250 X 4.6 mm y $5\mu\text{m}$ de tamaño de

partícula. La fase móvil fue 60:40 (v:v) acetonitrilo: 0.1% H_3PO_4 1.5 ml/min. La detección fue a 210 nm. La muestra inyectada de 1 μl fue disuelta en acetonitrilo en una concentración de 10 mg/ml. El producto tuvo un tiempo de retención de 5.0 min y el del éster no bromado fue de 3.8 min. Este producto crudo fue purificado por destilación al vacío para obtener un producto de 96% de pureza con un rendimiento del 84%. El resultado de la RNM 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 relaciona con la preparación del acetato de metil 4-clorofenilo- (3-trifluorometilfenoxi).

Este paso fue similar al mismo paso en U.S. 3,517,050 con una excepción, el t-butóxido de potasio fue usado en lugar de metóxido de sodio para prevenir la generación del éster de metilo correspondiente. Un reactor A 5-L Morton equipado con un agitador superior, un detector de temperatura de inmersión, y un embudo adicional y bajo corriente de atmósfera de nitrógeno fue cargado con acetato de bromuro de metilbromo-(4-clorofenilo) (830 gm, 3.0 moles) y THF (600ml). El reactor fue enfriado a $14^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ en un baño agua-hielo y entonces adicionada una solución enfriada similarmente de trifluorometilo-m-cresol (530 gm, 3.3 moles) en t-butóxido de potasio en THF (3.1L, 3.1 moles). La reacción originada

767 7/28

exotérmicamente con una temperatura típica se elevó excediendo 25°C y además fue controlada para mantener una temperatura de $15^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ y agitado a temperatura ambiente durante 2 horas. La HPLC fue corrida en una columna Zorbax SB-C8 a 30°C de medidas 250 x 4.6 mm y un tamaño de partícula de 5 μ . 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 fue disuelta en acetonitrilo a una concentración de 10mg/ml. El producto tuvo una retención de 9.6 min., el éster comenzó a eluir a los 5 min., el fenol a los 3.0 y el éster no bromado a los 3.8 min. El solvente fue retirado usando un rotavapor para obtener un lodo amarillo que fue disuelto en una mezcla de 4.0 L de agua y 12.0L de éter. La mezcla fue separada y la fase orgánica fue lavada una vez con 1.5 L de solución acuosa de NaCl al 25% (v:v). La fase orgánica fue secada sobre 0.32 kg de MgSO_4 y filtrada a través de papel de filtro Whatman No.1. El solvente fue eliminado para obtener 1.0 kg de cristales blancos húmedos. Fueron recrystalizados en el rotavapor por disolución en 1.0 L de metilciclohexano a 75°C y luego enfriado a 20°. Los cristales fueron filtrados a través de papel de filtro Whatman No.1 y lavado con tres porciones de 0.25 L de metilciclohexano frío (15°). El producto húmedo (0.97 kg) fue secado durante la noche para obtener 0.81 kg de producto de pureza 98% que corresponde a 79 % de rendimiento. La NMR protónica del producto(CDCl_3 , 300 MHz) muestra desplazamientos a 3.75 (s,3H), 5.63 (s, 1H) y 7.05-7.55 (m, 8H).

768 278 271

Este ejemplo se relaciona con la preparación del ácido acético 4-clorofenilo-(3-trifluorometilfenoxi).

5

Un reactor 12-L Morton con agitador magnético, un controlador de temperatura de inmersión, un condensador de reflujo y una atmósfera
10 bajo nitrógeno se cargó con acetato de metil 4-clorofenilo-(3-trifluorometilfenoxi) (810 gm, 2.3 moles) y (5.8 L) y se calentó con agitación a 57° C para disolver el sólido. Una solución de KOH (520 gm, 9.3 moles) en 0.98 L de agua se adicionó. La solución se llevó a reflujo por 30 min. y el solvente fue retirado por rotavapor para obtener 2.03 kg de
15 una mezcla de dos líquidos casi incoloros. Estos fueron disueltos en agua (16 L) y tratados con 16 gm de Norit neutro, filtrados entonces a través de una tierra de infusorios retenido sobre papel de filtro Whatman No.1 El pH del filtrado fue disminuido de un rango inicial de 13 a un rango inicial de 1 a 2 por adición total de 2.75 L de HCl 3 M (8.25 moles). Un sólido muy
20 viscoso formado después de la adición de los primeros 2.30 L de ácido y éter (7 L) se adicionaron en este punto. Las dos fases fueron separadas y la fase orgánica se secó sobre MgSO₄ (230 gm) y filtrada a través de papel de filtro Whatman No. 1. El solvente entonces se eliminó para obtener 0.85 kg de un jarabe acuoso-blancuzco. El material se recristalizó entonces en el
25 rotavapor por adición de metilciclohexano (800 ml) y se enfrió a 18°C con rotación lenta. La temperatura cayó entonces a 5°C, los cristales se

269 78 272

filtraron, y lavaron 5 veces con porciones de 0.10 L de metilciclohexano (0°C) frío para obtener 0.59 kg de cristales húmedos. Los cristales húmedos se secaron para obtener 0.48 kg (62% de rendimiento) de producto sin ácido p-clorofenilacético detectable en la NMR protónica. El
5 resultado de la NMR protónica (CDCl₃, 300 MHz) muestra desplazamientos a 5.65 (s, 1H), 7.02-7.58 (m, 8H) y 10.6 (s, 1H).

EJEMPLO 4

10 Este ejemplo se relaciona con la preparación de enantiómeros resueltos del ácido acético (3-trifluorometilfenoxi) clorofenilo.

15

Un reactor Morton 12-L abierto en su parte superior con un agitador
20 superior fue cargado con ácido acético 4-clorofenilo-(3-trifluorometilfenoxi) (350 gm, 1.06 moles) e isopropano (4.0 L) y calentado a 65° ± 3°C. Una pasta de (-) cinconidina (300 gm, 1.02 moles) en isopropanol (2.0 L) se adicionó, escurriendo todo el sólido en el reactor con 0.8 L de isopropanol adicional. La temperatura cayó de 65°C a 56°C y una solución naranja,
25 transparente formada finalmente y la mezcla fue mantenida a 55°C ± 5°C durante 2 horas. Cristales finos se colectaron por filtración a través de un

270827

papel de filtro Whatman No.1, lavando una vez con 0.7 L de isopropanol caliente (55°C). Los cristales se secaron durante 16 horas a temperatura ambiente en un horno al vacío 12.6 L bajo flujo de nitrógeno a 5 LPM. El sólido seco pesó 0.37 kg y tuvo un 80% de exceso de enantiómero (ee) del (+) enantiómero. El exceso de enantiómero fue determinado por HPLC usando una columna de 250 x 4.6 mm R, R-WhelkO-1 a temperatura ambiente. La muestra inyectada fue de 20 µl de 2mg/ml de solución de la muestra en etanol. La columna fue eluida con 95:5:0.4 de hexano:isopropanol: ácido acético a un flujo de 1 ml/min. La detección se hizo a 210 nm. El enantiómero (+) eluyó de 7 a 8 min. y el (-) enantiómero de 11 a 13 min. El líquido madre cayó a una segunda copa casi inmediatamente que fue filtrado, lavado, y secado para proporcionar 0.06 kg de sal que tiene un 90% ee del (-) enantiómero. Similarmente, se obtuvieron la tercera, cuarta y quinta recolecciones pesando 0.03 kg, 0.03 kg y 0.7 respectivamente; con excesos del (-) enantiómero del 88%, 89% y 92% respectivamente.

La (+) sal cruda (320 gm) se recrystalizó desde una mezcla de etanol (5.9L) y metano (1.2 L). La mezcla se calentó con agitación superior para disolver, se enfrió a temperatura ambiente durante 16 horas, fue filtrada y lavada dos veces con 0.20 L de etanol:metanol 5:1 (v:v). Los cristales se secaron para obtener 0.24 kg del (+) enantiómero que tuvo un ee del 97%. Éste correspondió a un 80% de recuperación de este isómero. La sal recuperada fue suspendida en una mezcla de éter (6.5 L) y agua (4.0 L) con agitación superior. El pH fue disminuido hasta 0-1 como se midió con tiras indicadoras de pH, con una solución de H₂SO₄ concentrado (0.13 L) en agua (2.5 L). Las fases fueron separadas y la fase orgánica lavada dos

27185
27A

veces con porciones de 6.5 L de agua. El éter (1.9 L) fue adicionado a la fase orgánica lavada una vez más con 6.5 L de agua. Después de la separación final se adicionó 0.1 L de NaCl del 25% (peso:peso) para eliminar cualquier emulsión ligera. El producto se secó sobre 0.19 kg de

5 MgSO_4 , se filtró y removi6 el solvente para obtener 0.13 kg de jarabe blanquecino-acuoso que solidific6 en frío. Este correspondi6 a recuperar el 97% del producto que tuvo un 95 % del ee (+) enanti6mero. $[\alpha]_D^{+5.814^\circ}$ (c.=0.069 en alcohol metílico).

La sal cruda combinada (-) (200gm) se recrystaliz6 en isopropanol (3.1 L).

10 La mezcla se calent6 para disolver casi todo el s6lido y filtrar r6pidamente para remover s6lidos insolubles. La mezcla fue entonces enfriada con agitaci6n a temperatura ambiente por 16 horas, filtrado, lavado, y secado para obtener 0.16 kg del (-) enanti6mero que tiene un ee del 97%. Este corresponde a recuperar un 49% de este is6mero. El (-) enanti6mero del

15 6cido se aisl6 de la misma manera como se describi6 anteriormente para el (+) 6cido. La sal resuelta fue suspendida en 6ter y agua, el pH se baj6 con H_2SO_4 concentrado y extraído el producto en la fase org6nica.

EJEMPLO 5

20 A. La preparaci6n del (-) Cloruro de acetilo 4-clorofenilo-(3-trifluorometilfenoxi)

272 825

Un frasco de evaporación A 2-L con agitador magnético, con adaptador Claissen, termómetro de inmersión y condensador de reflujo dirigido a un raspador de gas cargado con (-) Ácido acético 4-clorofenilo-(3-trifluorometilfenoxi (143 g, 0.42 moles basado en el 97% de pureza) y
5 CHCl_3 (170 ml) se calentaron a ebullición para disolver. Se adicionó el SOCl_2 (38 ml, 62.1 gm, 0.52 moles) se adicionaron. La mezcla se calentó hasta reflujo (68° C final) durante 4.5 horas y entonces se liberó de volátiles para obtener 151 g de un líquido turbio, amarillo (103% de rendimiento aparente). El material fue usado en el siguiente paso sin
10 purificación adicional.

B. Preparación de Cloruro de acetilo(+) 4-clorofenilo- (3-trifluorometilfenoxi).

15

Un frasco de evaporación de 3L con agitador magnético, adaptador Claissen termómetro de inmersión y condensador de reflujo dirigido a un
20 raspador de gas se cargó con (+) ácido acético 4 clorofenilo- (3-trifluorometoxi (131 g, 0.37 moles) y CHCl_3 (152 ml) y se calentó a ebullición para disolver. Se adicionó SOCl_2 (35 ml, 56.6 g, 0.48 moles). La mezcla fue calentada a reflujo (70° C final) durante 4 horas y entonces se liberó de volátiles para obtener 139 g de líquido. El material se usó en el
25 siguiente paso sin purificación adicional.

273 87
276

EJEMPLO 6

A. Preparación del Acetato (-) acetamidoetilo-4-clorofenilo- (3 trifluorometilfenoxi)

5

- 10 Un frasco de fondo redondo de 3 L con agitador magnético, termómetro de inmersión bajo atmósfera de nitrógeno en un baño de agua-hielo 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 muestra se enfrió de 0° C a 5°C y una solución de Cloruro de acetilo (-) 4-clorofenilo-(-3-trifluorometilfenoxi) (151 gm, 0.42 moles basada en el 100% de rendimiento del paso previo) en éter (170 ml) se adicionó a los 40 minutos de manera que se mantuvo la temperatura de inmersión debajo de 13°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y se disolvió por adición de agua (960 ml) seguida por acetato de etilo (630 ml). La
- 15 adición de agua procedió exotérmicamente elevando la temperatura de 24° a 34° C. La adición de acetato de etilo causó una caída de la temperatura a 30° C. Las fase fueron separadas y la fase acuosa extraída una vez con acetato de etilo (125 ml). La fase orgánica combinada fue extraída una vez con NaHCO₃ acuoso al 7% (peso:peso) (125 ml) y cinco veces con porciones
- 20 de 60 ml de NaCl acuoso al 25% (peso:peso). El producto se secó sobre MgSO₄ (42 g) y filtrado a través de papel de filtro Whatman No.1. El
- 25

27487
277

solvente se eliminó usando un rotavapor para obtener 160 g de un jarabe amarillo correspondiente a un rendimiento del 80 % basado en la NMR protónica que muestra 87% de producto, 8% de Acetato de etilo, 4% de amida no bromada, y 1% de DMF. Este jarabe se disolvió en MTBE (225 ml) a temperatura ambiente y refrigerada (-15° C) se adicionó con agitación de hexanos del 85% (400ml). Se formaron dos fases líquidas, luego cristales, luego la mezcla formó un sólido. La masa sólida se desechó sobre un embudo Buchner adecuado con papel Whatman No. 1. y lavado tres veces con porciones de 100 ml de MTBE:hexano 1:1 (v:v) para obtener 312 g de producto húmedo el cual seco pesó 127 gm, correspondiente al 73% de rendimiento.

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

15

20 Un frasco de 3 L de fondo redondo con agitador magnético, termómetro de inmersión, bajo una atmósfera de nitrógeno y en un baño de agua-hielo se cargó 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 de 0° a 5° C y una solución cruda de (+) cloruro de acetilo 4-clorofenilo -(3-trifluorometilfenoxi) (139 gm, 0.37 moles basado en un rendimiento del 100% del paso previo) en éter (155 ml) se adicionó después de un periodo

25

275 85
278

de 25 min de manera tal para mantener la temperatura de inmersión debajo de 13°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 horas y se disolvió por adición de agua (850ml) seguida por acetato de etilo (550 ml). La adición de agua procedió exotérmicamente elevando la

5 temperatura desde 24° a 34° C. La adición de acetato de etilo causó una caída de la temperatura de 30° C. Las capas fueron separadas y la fase acuosa extraída una vez con acetato de etilo (110 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con porciones de 55 ml de agua y entonces cinco veces con porciones de 55 ml de NaCl acuoso del 25%

10 (peso:peso) y secado sobre 30 g de MgSO_4 y se filtró a través de papel de filtro Whatman No. 1. El solvente se eliminó usando un rotavapor para obtener 168 g de líquido amarillo correspondiente a un rendimiento del 86% basado en la NMR protónica que muestra 79% de producto, 9% de acetato de etilo, 8% de amida no bromada, y 4% de DMF. El producto se

15 cristalizó en un vaso de precipitado de 800 ml por disolución en MTBE (200 ml) a temperatura ambiente, enfriando a -15° C durante 1.4 horas, adicionando 200 ml de hexano 85% y entonces refrigerando por 1 hora. La masa sólida se vertió sobre un embudo Buchner adecuado con Whatman No. 1, se presionó y se lavó una vez con MTBE:hexano (100 ml) 1:1 (v:v)

20 para obtener 201 gm de producto húmedo. El producto fue secado bajo flujo de nitrógeno y triturado con hexanos 85% (700 ml) usando un agitador superior. El material se filtró y secó para obtener 87 gm de producto. Los α (+) y (-) enantiómeros se analizaron por HPLC usando una columna de 250 x 4.6 mm R,R-WhelkO-1 a temperatura ambiente. Se

25 inyectó una muestra de 20 μl de soluciones de 2 mg/ml de las muestras en etanol. La columna se eluyó con isopropanol: hexano 60:40, a un flujo

276 85
279

de 1ml/7min. La detección se hizo a 220 nm. El (+) enantiómero eluyó de 5.0 a 5.2 min. y el (-) enantiómero de 5.7 a 5.9 min.

EJEMPLO 7

5 Este ejemplo se relaciona con la inhibición del citocromo P450 2C9 (CYP2C9) por los componentes de la presente invención.

La hidroxilación de tolbutamida de actividad ($100\mu\text{M}^{14}$ C-tolbutamida; 1mM NADPH) se ensayó en microsomas de hígado humano macerado (0.6 mg proteína/ml) durante 60 minutos a 37° C, con y sin compuestos de prueba. El ácido halofénico racémico, el (-) ácido halofénico y el (+) ácido halofénico se probaron ($0.25\mu\text{M}$ a $40\mu\text{M}$). Como se muestra en la figura 1, el ácido halofénico racémico inhibió el CYP2C9 mediante hidroxilación de la tolbutamida activada en microsomas de hígado humano con un IC_{50} aparente de $4.5\mu\text{M}$. Una diferencia sustancial se notó en la capacidad de los enantiómeros del ácido halofénico para inhibir el CYP2C9. El ácido halofénico tuvo un IC_{50} aparente de $0.22\mu\text{M}$ donde el (-) ácido halofénico tuvo casi 20 veces menos potencia con un IC_{50} aparente de $3.5\mu\text{M}$.

EJEMPLO 8

20

Este ejemplo se relaciona con el decurso del tiempo de la disminución de glucosa para los compuestos de la presente invención.

A. Materiales y Métodos

Ratones, de 9-10 semanas de edad C57BL/6J ob/ob se compraron al Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA) Los animales se mantuvieron (4-5 ratones/jaula) bajo condiciones estándar de laboratorio a 22°C y con

25

27787
200

una humedad relativa del 50% y se mantuvieron con una dieta de alimento para roedores Purina y agua *ad libitum*. Antes del tratamiento, la sangre fue colectada de la vena de la cola de cada animal. Se usaron los ratones que no tuvieron niveles de ayuno de glucosa en plasma entre 300 y 500. Cada grupo de tratamiento consistió de 10 ratones que se distribuyeron de manera tal que los niveles medios de glucosa fueron equivalentes en cada grupo al del inicio del estudio. Los ratones fueron dosificados oralmente una vez por administración, ya sea con vehículo, halofenato racémico (250 mg/kg), (-) halofenato (250 mg/kg) ó (+) halofenato (250 mg/kg). Todos los componentes se liberaron en una formulación líquida que contenía 5% de sulfóxido de dimetilo (DMSO) (v/v), tween 80 al 1% (v/v) y 2.7% (w/v) de metilcelulosa. El volumen de administración fue de 10 ml/kg. Las muestras de sangre fueron tomadas a 1.5, 3, 4.5, 6, 7.5, 9 y 24 horas después de la dosis y analizada la glucosa del plasma. Las concentraciones de la glucosa del plasma se determinaron colorimétricamente usando el método de glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) Una diferencia de importancia entre los grupos (comparando el tratado con droga al tratado con vehículo o entre los grupos tratados con droga se evaluó usando una prueba t Impar según Student.

B. Resultados

Como se ilustró en la Figura 2, el halofenato racémico redujo significativamente las concentraciones de glucosa en plasma en la mayoría de los puntos de tiempo con el pico de actividad a 9 horas. El (-) halofenato mostró una reducción en la glucosa del plasma tan tempranamente como 1.5 horas y alcanzó el pico de actividad a 3 las horas. Las concentraciones

278 281

de glucosa en plasma permanecieron bajas hasta las 24 horas El (+) halofenato no mostró actividad significativa hasta 4.5 horas y el pico de actividad fue a 7.5 horas. La glucosa del plasma comenzó a repercutir después. Hubo diferencias significativas entre (-) y (+) enantiómeros del halofenato y en los puntos de tiempo de 3 y 24 horas. La actividad del (-) halofenato fue un inicio más rápido y permaneció más tiempo.

EJEMPLO 9

Este ejemplo se relaciona con la actividad de disminución de la glucosa de los compuestos de la presente invención.

A. Materiales y Métodos

Ratones de 8-9 semanas, C57BL/6J 0b/ob se adquirieron en el Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Los animales fueron alojados (4-5 ratones /jaula) bajo condiciones estándar de laboratorio a 22° C y con una humedad relativa del 50% y fueron mantenidos a dieta de alimento para roedores Purina y agua *ad libitum*. Antes del tratamiento, la sangre se colectó de la vena de la cola de cada animal. Se usaron los ratones que no tuvieron ayuno los niveles de glucosa del plasma entre 300 y 520 mg/. Cada uno de los grupos de tratamiento consistió de 10 ratones que fueron distribuidos de tal manera que los niveles promedio de glucosa fueron equivalentes en cada grupo así como al inicio del estudio. Los ratones se dosificaron oralmente por administración una vez al día durante 5 días con ya fuera vehículo o halofenato racémico (250mg/kg), (-) halofenato (125 y 250 mg/kg) ó (+) halofenato (125 y 250 mg/kg). El halofenato racémico se liberó en 2.7% (p/v) de metilcelulosa y tanto el (-) enantiómero

279 35 232

como el (+) enantiómero se liberaron en una formulación líquida que contiene 5 % (v/v) de sulfóxido de dimetilo (DMSO), 1% (v/v) tween 80 y 2.7 % (w/v) de metil celulosa. El volumen de administración fue de 10 ml/kg. Las muestras de sangre fueron tomadas a 3,6, 27, 30 y 120 horas después de la primera dosis y se analizaron la glucosa y la insulina en el plasma. Los animales ayunaron durante la noche (14 horas) antes de 120 horas del muestreo.

Las concentraciones de glucosa en plasma se determinaron colorimétricamente usando el método de glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA). Las concentraciones de insulina en plasma se determinaron usando el Juego de Rat Insulin RIA de Linco Research Inc. (St Charles, MO, USA). La diferencia significativa entre los grupos (comparando los tratados con droga a tratados con vehículo) se evaluaron usando la prueba t de Student impar.

B. Resultados

Como se ilustra en la figura 3, el (-) halofenato redujo significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a 6, 27 y 30 horas. El (-) halofenato a niveles de ambas dosis disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a 6, 27 y 30 horas. La dosis alta (250 mg/kg) se activó también a las 3 horas. El (+) halofenato a 125mg/kg mostró la reducción de glucosa en plasma a 6 y 27 horas, en donde a 250 mg/kg, las disminuciones de concentraciones de glucosa en plasmas se observaron a 3, 6, 27 y 30 horas. Los niveles de insulina en plasma están mostrados en la figura 4. El halofenato racémico redujo significativamente la insulina a la 6 y 27 horas. La insulina en plasma se redujo significativamente en los grupos de (-) halofenato a las 27 horas en ambas

280 280

dosis y se redujo significativamente a las 30 horas en animales tratados con 250/kg/día. El (+) halofenato redujo significativamente la insulina a las 27 y 30 horas en ambas dosis. Una reducción significativa con 125 mg/kg/día se observó después de 6 horas. Después de ayunar durante la noche (a 120 horas), todos los tratamientos redujeron las concentraciones de glucosa en plasma significativamente (Figura 5). La insulina en plasma se redujo significativamente en todos los grupos tratados con halofenato excepto el del (+) halofenato en 125mg/kg/día (Figura 6).

10 EJEMPLO 10

Este ejemplo relata la mejora en Resistencia a la insulina y Tolerancia de Glucosa Impedida para los compuestos de la presente invención.

A. Materiales y Métodos

15 Ratas macho de 8-9 semanas Zucker fa/fa (Charles River), se colocaron (2-3 ratones/ jaula) bajo condiciones estándar de laboratorio a 22° C y humedad relativa del 50% y se mantuvieron a dieta de alimento para roedores Purina y agua *ad libitum*. Antes del tratamiento las ratas se asignaron en 6 grupos basados en el peso corporal. Cada grupo de tratamiento consistió de 8 ratas. Las ratas se dosificaron oralmente una vez por administración con ya fuera vehículo, halofenato racémico (100mg/kg), (-) halofenato (50 ó 100 mg/kg) ó (+) halofenato (50 ó 100 mg/kg). Todos los componentes se administraron en una formulación líquida que contenía 5% (v/v) de dimetil sulfóxido (DMSO), 1% (v/v) de tween 80 y 2.7% (w/v) de metilcelulosa. El volumen administración fue de 10ml/kg. Todas las ratas recibieron un tratamiento con glucosa oral (1.9 g/kg) 5.5 horas después del tratamiento y 4 horas después del retiro del

281 8/28/20

alimento. Las muestras de sangre se tomaron a 0, 15, 30, 60 90 120 y 180 minutos siguiendo el consumo de glucosa para la medición de glucosa en plasma. Los grupos con el vehículo, el (-) halofenato (50 mg/kg) y el (+) halofenato (50 mg/kg) se sometieron a una toma de insulina siguiendo la
5 administración diaria de los tratamientos respectivos para 5 días. El día 5, las ratas recibieron insulina intravenosa (0.75 U/kg) 5.5 horas después de la última dosis y 4 horas después del retiro del alimento. Las muestras de sangre se tomaron a las 3, 6, 9, 12, 15 y 18 minutos siguiendo la inyección de insulina para la medición de glucosa en plasma. Las concentraciones de
10 glucosa se determinaron colorimétricamente usando el método de glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, U.S.A.). La diferencia significativa entre los grupos (comparando los grupos tratados con droga a los tratados con vehículo ó entre los tratados con droga) se evaluó usando la prueba t de Student impar.

15 B. Resultados.

Como se ilustra en la Figura 7A, las ratas gordas Zucker con Tolerancia a la Glucosa Impedida, que disminuyeron los niveles de glucosa en plasma después de una toma de glucosa después del tratamiento con halofenato. El (-) halofenato fue el más efectivo en la disminución de glucosa y tuvo un
20 efecto que persistió más que el del racemato ó del (+) enantiómero. La Figura 7B muestra el área incrementada bajo la curva (AUC) para todos los grupos de tratamiento. Los animales tratados con el (-) halofenato mostraron una reducción significativa en el área de glucosa con relación a los controles tratados con vehículo. Aunque el AUC decreció en los grupos
25 tratados con el racemato ó (+) halofenato, los efectos no fueron tan grandes

92 205
282

como en las ratas tratadas con (-) halofenato y la diferencia no fue significativa estadísticamente.

Los cambios en la sensibilidad a la insulina se determinaron por control de la caída de glucosa después de una inyección intravenosa de insulina. La pendiente de la línea es una indicación dirección de la sensibilidad de insulina del animal de prueba. Como se muestra en la Figura 8, la sensibilidad a la insulina se mejoró significativamente después de 5 días de tratamiento con (-) halofenato comparado con los controles tratados con vehículo ($p < 0.01$) y animales tratados con (+) halofenato ($p > 0.05$). El tratamiento con (+) halofenato tuvo un pequeño efecto sobre la sensibilidad a la insulina que no fue significativamente diferente de los controles tratados con vehículo ($p = 0.083$). El tratamiento con (-) halofenato redujo sustancialmente la resistencia a la insulina en las ratas gordas Zucker, un modelo bien establecido de Tolerancia a la Glucosa Impedida y resistencia a la insulina.

EJEMPLO 11

Este ejemplo se relaciona con la actividad de disminución de los lípidos, de los compuestos de la presente invención.

20 A. Materiales y Métodos

Ratas macho Zucker diabéticas gordas de 9 semanas fueron obtenidas de GMI Laboratories (Indianapolis, IN). El vehículo ó los enantiómeros de halofenato fueron administrados por vía oral administración en una dosis diaria iniciando a los 74 días de edad. Las muestras de sangre inicial se obtuvieron por análisis un día antes del tratamiento y al tiempo indicado

233 296

en el protocolo de tratamiento. La sangre se analizó para triglicéridos y colesterol en plasma por técnicas estándar.

B. Resultados

5 En el experimento I los animales recibieron una dosis de 25 mg/kg/día. Como se muestra en la Figura 9A y Figura 9B, un decrecimiento significativo de colesterol en plasma se notó solamente en animales tratados con (-) halofenato después de 7 y 13 días de tratamiento. En el experimento II, los animales de 107 días de edad recibieron dosis diarias
10 de ya fuera 12.5 mg/kg/día ó 37.5 mg/kg/día de los enantiómeros (-) y (+) de halofenato. En contraste, para el (-) halofenato a la dosis baja, un significativo decrecimiento en colesterol se observó después de 7 días. A una dosis alta una mayor declinación de colesterol en plasma se notó con evidencia para ambos después de 7 y 14 días de tratamiento. Como se
15 muestra en la Figura 11A y Figura 11B, un significativo decrecimiento de triglicéridos en plasma se notó también después de 7 días de tratamiento a una dosis alta con la cual fue de mayor magnitud en animales tratados con el (-) enantiómero de halofenato.

20

EJEMPLO 12

Este ejemplo relata el decrecimiento de la actividad de la glucosa de los análogos de (+) halofenato.

A. Materiales y Métodos.

25 Ratones macho, de 8-9 semanas, C57BL/6J ob/ob fueron adquiridos en Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Los animales fueron alojados

(4-5 ratones/jaula) bajo condiciones estándar de laboratorio a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ de temperatura y $50 \pm 20\%$ de humedad relativa, y fueron mantenidos a dieta de alimento para roedores Purina y agua *ad libitum*. Antes del tratamiento, la sangre fue colectada de una vena de la cola de cada animal. Se usaron ratones que tenían niveles de glucosa en el plasma, entre 250 y 500 mg/dl sin ayuno. Cada grupo de tratamiento consistió de 8-10 ratones que fueron distribuidos de tal forma que los niveles medios de glucosa fueron equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. Los ratones fueron dosificados oralmente por medio de catéter una vez al día por 1-3 días con ya fuera vehículo, (-) ácido halofénico, análogo 14, 29, 33, 34,35,36, 37 ó 38 a 125 mg/kg. Los compuestos fueron administrados en formulación líquida conteniendo dimetil sulfóxido (DMSO) al 5 % (v/v), tween 80 y 0.9 % (p/v) dimetil celulosa. El volumen del catéter fue de 10 ml/kg. Las muestras de sangre se tomaron 6 horas después de cada dosis y se les analizó la glucosa en plasma. El consumo de alimento y el peso del cuerpo se midieron diariamente. Las concentraciones de glucosa en plasma se determinaron colorimétricamente usando el método de glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA). Diferencia significativa entre grupos (comparando los tratados con medicamento y los tratados con vehículos) se evaluaron usando la prueba de t Student impar.

B. Resultados

Como se ilustra en la Tabla 2, los compuestos se evaluaron en 5 diferentes experimentos. Dosis sencillas del (-) ácido halofénico redujeron significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6 horas. El análogo 14 disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa

235 25 288

en plasma a las 6, 30 y 54 horas. El análogo 33 disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa a las 6 y 54 horas. Los análogos 29 y 38 disminuyeron significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 6, 30 y 54 horas. Los análogos 35 y 36 disminuyeron significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 30 y 54 horas. El análogo 37 disminuyó significativamente las concentraciones de glucosa en plasma a las 54 horas. Los compuestos de tratamiento no afectaron los consumos de alimento de los animales y el peso corporal.

Tabla 1: (+) Halofenatos análogos. Compuestos descritos en referencia a la fórmula II.

Compuesto No	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)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

206 95 209

Tabla 2. Actividades de disminución de glucosa de Análogos de (±) halofenato.

5

	Predosis	6 horas		30 horas		54 horas	
	Glucosa (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	VALOR P vs. veh	Glucosa (mg/dl)	VALOR P vs. veh	Glucosa (mg/dl)	VALOR P vs. veh
Vehículo	313±18	303±19.8		NA		NA	
ácido (-)halofénico	312.9±17.7	163.8±11.8	0.0011	NA		NA	
Vehículo	360.2±27.8	405.8±25.8		356.0±27.6		386.1±20.6	
Análogo 14	361.0±17.1	328.9±34.1	0.0444	267.0±21.3	0.0099	293.0±29.4	0.0092
Vehículo	291.6±18.5	363.0±25.1		340.8±30.0		351.5±23.8	
Análogo 33	292.0±19.1	227.5±13.2	0.0001	298.0±15.3	0.1119	286.6±9.9	0.0125
Vehículo	387.1±14.3	371.5±24.2		326.2±22.5		374.0±37.9	
Análogo 29	387.1±16.0	299.7±24.5	0.0259	237.4±14.9	0.0020	293.3±9.7	0.0268
Análogo 35	387.0±18.0	319.6±26.7	0.0834	276.8±17.6	0.0504	286.2±31.5	0.0458
Análogo 37	387.4±18.8	345.4±19.7	NS	312.5±21.7	NS	285.1±14.7	0.0210
Vehículo	329.6±16.1	361.8±23.2		346.5±24.6		379.2±24.4	
Análogo 36	329.7±17.6	300.5±27.3	0.0522	249.7±8.6	0.0008	272.2±18.4	0.0013
Análogo 38	329.4±18.9	303.2±18.2	0.0312	245.6±15.6	0.0014	243.1±10.6	0.0000

EJEMPLO 13

Este ejemplo se relaciona con la comparación entre las actividades del (-) halofenato y (+) halofenato.

10

287 9/7/2008

A. Materiales y Métodos

Ratones (ZDF) de 8-9 semanas se adquirieron en Genetic Models, Inc. (Indianapolis, IN). Los animales se hospedaron bajo condiciones estándar de laboratorio (3 ratas/jaula) a $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ de temperatura y una humedad relativa de $50 \pm 20\%$, y fueron mantenidos en dieta de alimento Purina para roedores y agua *ad libitum*. Antes del tratamiento, la sangre se colectó de la vena de la cola de cada animal. Se usaron las ratas que tenían 4 días de ayuno y se usaron niveles entre 200 y 500 mg/dl de glucosa en el plasma. Cada grupo de tratamiento consistió de 8 a 10 ratones que se distribuyeron de tal manera que los niveles de glucosa fueron equivalentes en cada grupo a los del inicio del estudio. Las ratas fueron dosificadas oralmente por medio de catéter una vez al día por 1-3 días ya fuera con vehículo, (-) halofenato ó (+) halofenato a 50 mg/kg. Los compuestos fueron administrados en formulación líquida conteniendo dimetil sulfóxido (DMSO) al 5 % (v/v), 1% de tween 80 (v/v) y metil celulosa al 0.9 % (p/v). El volumen del catéter fue de 5 ml/kg. Las muestras de sangre se tomaron 6 horas después de cada dosis los días 2 y 3. Las concentraciones de glucosa en plasma se determinaron colorimétricamente usando el método de glucosa oxidasa (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA). Una diferencia significativa entre los grupos (comparando grupos tratados con medicamentos y tratados con vehículo) se evaluó usando el método de prueba de Student impar t.

B. Resultados.

La administración oral de (-) halofenato de 50 mg/kg redujo significativamente las concentraciones de glucosa, mientras el (+)

288-9594

halofenato en los mismos niveles de dosis falló para reducir las concentraciones de glucosa en plasma así como se comparó con los animales tratados con vehículo. (Figura 12).

5

EJEMPLO 14

Este ejemplo se relaciona con el estudio farmacocinético del (+) halofenato y (-) halofenato.

A. Materiales y Métodos.

10 Ratas machos 225-250 g SD se adquirieron en Charles River. Los animales fueron hospedados (3 ratas/jaula) bajo condiciones estándar de laboratorio a $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ de temperatura y una humedad relativa de $50 \pm 20\%$, y fueron mantenidos a una dieta de alimento de Purina para roedores y agua *ad libitum*. Se colocó un catéter en la arteria carótida bajo fenobarbital sódico (50 mg/kg i.p) y a los animales se les permitió
15 recuperarse por 2 días antes del tratamiento. Dosis simples de ($\pm$) halofenato ó halofenato (-) de 50 mg/kg se administraron vía catéter oral. Los compuestos se administraron en una formulación líquida que contenía dimetil sulfóxido (DMSO) al 5% (v/v), tween al 1% (v/v), y metilcelulosa al 0.9% (p/v). El volumen del catéter fue de 5ml/Kg. Las muestras de sangre
20 se colectaron a 1,2,4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la dosis. Las muestras de plasma se analizaron para cada ácido enantiomérico, () ácido halofénico y (+) ácido halofénico por un ensayo de HPLC quiral específico, dado que los ésteres son prodrogas, los cuales están designados para convertir sus respectivos ácidos enantioméricos *in vivo*.
25

B. Resultados

239/25/22

Después de una administración oral de ($\pm$) halofenato, tanto el (-) ácido halofénico como el (+) ácido halofénico se detectaron en las muestras de plasma. Como se muestra en la tabla 3, aparece que los dos ácidos enantioméricos tuvieron diferentes perfiles dispositionales. La eliminación del (-) ácido halofénico fue mucho más lenta que la del (+) ácido halofénico. Como resultado, el AUC del (-) ácido halofénico fue significativamente más alto que el AUC del (+) ácido halofénico, 4708.0 vs 758.0 $\mu\text{g.h/mL}$ y el tiempo de vida media fue de 46.8 vs. 14.3 horas.

Después de la administración oral del (-) halofenato, el perfil disposicional del (-) ácido halofénico fue básicamente idéntico al de la administración del ($\pm$) halofenato así como la vida media terminal es la misma (Tabla 2). El C_{max} y AUC del (-) ácido halofénico fueron proporcionalmente más altos simplemente debido a la cantidad mayor de (-) halofenato administrado. (Tabla 3). El ácido halofénico se detectó también en el plasma pero la concentración fue mucho más baja que la del (-) ácido halofénico. Se ha especulado que el (+) ácido halofénico se formó *in vivo* dado que la vida media terminal ($T_{1/2}$) de ambos ácidos fue similar.

Estos resultados sugieren que el uso del (-) halofenato es más deseable dado que el AUC del (-) ácido halofénico fue significativamente más alto entonces que el AUC para el (+) ácido halofénico.

Tabla 3: Análisis farmacocinético de (-) Halofenato (- Enantiómero) y (+) Halofenato (+ Enantiómero)

Droga Administrada	(-) halofenato (n=3)	($\pm$) halofenato (n=1)
--------------------	----------------------	----------------------------

290 105 290

Enantiómero	-	+	-	+
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 _{1/2} (horas)	46.4±4.7	41.7±11.8	46.8	14.3

La dosis de cada enantiómero en el (±) halofenato es el 50% de la dosis total de la mezcla racémica.

5 **Tabla 4: Concentraciones en el plasma de () ácido halofénico (-ácido) y (+) ácido halofénico (+ ácido) después de una dosis sencilla de (-) halofenato**

Tiempo (horas)	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	2.06
12	135.3	80.6	104.8	2.85	2.23	2.08
24	82.5	73.1	66.5	2.22	1.29	1.86
48	56.2	44.5	47.1	1.64	1.03	1.14
72	39.7	37.4	30.8	1.25	BQL	BQL
96	31.1	N/A	24.6	BQL	N/A	BQL
120	20.3	N/A	N/A	BQL	N/A	N/A

EJEMPLO 15

10 Este ejemplo se relaciona con la prevención del desarrollo de la diabetes y del alivio de la hipertrigliceridemia por el () halofenato.

291 15
294

A. Materiales y Métodos

Ratones machos, de 4 semanas, C57BL/6J db/db fueron adquiridos en Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). Los animales se hospedaron (5 ratones/jaula) bajo condiciones estándar de laboratorio a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ de temperatura y una humedad relativa de $50 \pm 20\%$, y se mantuvieron con una dieta en polvo de alimento para roedores Purina (No. 8640) y agua *ad libitum*. Antes del tratamiento, la sangre fue colectada de la vena de la cola de cada animal para glucosa en plasma, concentraciones de triglicéridos e insulina. Los ratones se distribuyeron de tal manera que los niveles de glucosa y peso corporal fueron equivalentes en cada grupo al comienzo del estudio. El grupo de control (20 ratones) se colocaron sobre alimento en polvo mezclado con sacarosa al 5% y (-) halofenato. La cantidad de (-) halofenato en el alimento se ajustó continuamente de acuerdo al peso corporal del animal y al consumo de alimento para reunir la dosis objetivo de 150 mg/kg/día. Las muestras de sangre se tomaron de 8-10 AM una vez a la semana por 9 semanas bajo condiciones de ayuno. El consumo de alimento y el peso corporal se midieron cada 1-3 días. La glucosa en plasma y las concentraciones de triglicéridos se determinaron colorimétricamente usando juegos de Sigma Chemical Co (No. 315 y No. 339, St. Louis, MO, USA). Los niveles de insulina en plasma se midieron usando un juego de ensayo RIA del Linco Research (St. Charles, MO). Diferencias significativas entre los grupos (comparando los tratados con medicamentos y tratados con vehículo) se evaluaron usando la prueba -t Student impar.

B. Resultados

Los ratones C57BL/6J db/db de 4 semanas están en un estado pre-diabético. Sus concentraciones de glucosa en plasma son normales, pero las concentraciones de insulina en plasma son significativamente elevadas. Como se ilustra en la Figura 13, las concentraciones de glucosa en plasma en ambos grupos fue normal al del inicio del experimento. Siguiendo el curso natural del desarrollo de la diabetes, los niveles de glucosa en plasma en el grupo de control se incrementaron progresivamente con la edad del animal, mientras el incremento de los niveles de glucosa en plasma en el grupo tratado con (-) halofenato se previno o retrasó significativamente. Así como se describió en la Figura 15, aproximadamente el 30% de los ratones no desarrolló diabetes en el grupo tratado con (-) halofenato cuando la diabetes es definida como los niveles de glucosa en plasma > 250 mg/dl. De otra manera, ninguno de los ratones en el grupo de control estaba libre de diabetes hacia la edad de 10 semanas. Consistente con el hallazgo de la glucosa en plasma, la insulina en plasma en el grupo de control disminuyó progresivamente, indicando el deterioro de la habilidad del páncreas para secretar insulina. El tratamiento de (-) halofenato mantuvo la concentración de insulina en plasma, indicando la prevención del deterioro de la función pancreática (Figura 14).

La Figura 16 muestra la progresión de las concentraciones de triglicéridos en plasma versus la edad en ratones C57BL/6J db/db. La administración de (-) halofenato alivió el incremento de la concentración de triglicéridos en plasma sobre el curso del experimento.

293 193
293

Este ejemplo describe la preparación de (-) Acetato de 2-Acetamidoetil 4-Clorofenilo- (3-trifluorometilfenoxi) ((-) halofenato).

5

El ácido 4-clorofenilacético se combinó con el 1,2-dicloroetano y la solución resultante se calentó a 45°C. El cloruro de tionilo se adicionó a la
10 mezcla de reacción, la cual se calentó a 60°C por 18 horas. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le adicionó entonces lentamente a la solución de N-acetiletanolamina en diclorometano. Después de agitación por 30 minutos, la reacción se sofocó con carbonato de potasio acuoso y tiosulfato de sodio. La capa orgánica se lavó con agua, se secó
15 sobre sulfato de magnesio y se filtró. La remoción del solvente por rotavapor produjo acetato de N-acetilaminoetil 2-bromo-2-(4-clorofenilo) como un aceite.

Se adicionó el 3- hidroxibenzotrifluoruro a la solución de hidróxido de potasio en isopropanol. El acetato de N-acetilaminoetil 2-bromo-2-(4-
20 clorofenilo en isopropanol se adicionó a la solución de isopropanol/fenóxido y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. El isopropanol se removió por destilación al vacío, y el lodo resultante se disolvió en acetato de etilo y se lavó dos veces con agua y una vez con salmuera. Después de secado sobre sulfato de magnesio y filtrado, el
25 solvente se removió para dar un producto crudo como un aceite. El producto crudo se disolvió en tolueno/hexano caliente / 1:1 v/v) y enfriado

294 1027 299

entre 0 y 10°C para cristalizar el producto. La torta filtrada se lavó con hexano/tolueno (1:1 v/v) y entonces secado bajo vacío a 50°C. El sólido aislado se disolvió en isopropanol en hexano caliente 1: 6 (v/v). Después de enfriado, el racémico puro acetato 2-acetamidoetil 4-clorofenilo- (3-trifluoro metilfenoxi) se formó como un sólido cristalino. El sólido se colectó por filtración, la torta filtrada se lavó con isopropanol en hexano 1: 6 (v/v) y se secó bajo vacío a 50°C.

El compuesto racémico se disolvió en una solución de isopropanol (IPA) al 20% y hexano al 80% al 2.5% (p/p). La solución resultante se pasó sobre una fase estacionaria quiral Whelk-O R,R (CSP) en forma continua hasta >98 el extracto ee podría ser removido. El solvente se evaporó del extracto bajo presión reducida para suministrar acetato (-) 2-acetamidoetil 4-clorofenilo- (3-trifluoro metil fenoxi). (La resolución Simulated Moving Bed se llevó a cabo por la Universal Pharm Technologies LLC de 70 Flagship Drive North Andover, MA 01845).

Aunque la invención anterior ha sido descrita en detalle para propósito de claridad de entendimiento, seria obvio que ciertas modificaciones pueden ser practicadas dentro del alcance de las reivindicaciones. Todas las publicaciones y documentos de patente citados aquí están incorporados aquí como referencia en su totalidad para todos los propósitos hasta el mismo grado como si cada uno fuera individualmente denotado.

Lo que se reivindica es:

REIVINDICACIONES

105
295 296

1. Un método para modular la diabetes Tipo 2 en un mamífero, que comprende: administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente activa del estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula I,



en donde:

R es un miembro seleccionado del grupo consistente de un hidroxil, alcoxil inferior, di-alquilamino inferior-alcoxil inferior, alcanamido inferior alcoxil inferior, benzamido-alcoxil inferior, ureido-alcoxil inferior, N'-alquil inferior-ureido-alcoxil inferior, alcoxil-carbamoilo inferior, alcoxil inferior halofenoxil sustituido, fenoxil carbamoil sustituido, carbonil alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior alquilamino inferior, alquilamino inferior halo sustituido, alquilamino inferior hidroxil sustituido, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxil inferior, ureido, y alcoxycarbonilamino; y

X es un halógeno; ó

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

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

108
296299

2. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula II,

5

10

en donde:

R² es un miembro seleccionado del grupo consistente de un fenil-alquilo inferior, alcanamido inferior-alquilo inferior, y benzamido-alquilo inferior.

15

3. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto es el acetato de 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)(-)2-acetamidoetilo.

4. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra por infusión intravenosa, liberación transdérmica o liberación oral.

20

5. El método de la reivindicación 1, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 3000 mg por día.

6. El método de la reivindicación 1, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 1500 mg por día.

25

297 107
300

7. El método de la reivindicación 1, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 5 a aproximadamente 250 mg por kg por día.
- 5 8. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra junto con un transportador farmacéuticamente aceptable.
9. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto modula la hiperglicemia reduciendo los niveles de glucosa en la sangre en el mamífero.
- 10 10. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto modula la hemoglobina A_{1c} en el mamífero.
11. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto modula una complicación microvascular y macrovascular asociada con la diabetes.
- 15 12. El método de la reivindicación 11, en donde la complicación microvascular es retinopatía, neuropatía o nefropatía.
13. El método de la reivindicación 11, en donde la complicación macrovascular es enfermedad cardiovascular o enfermedad vascular periférica.
- 20 14. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto modula la arterioesclerosis.
15. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto previene el desarrollo de diabetes en un mamífero.
- 25 16. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra en combinación con un compuesto seleccionado del grupo consistente de: una sulfonilúrea u otro segretogogo de la

108
298-301

insulina, una tiazolidindiona, un fibrado, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, una biguanida, una resina enlazante de ácido biliar, un inhibidor de α -glucosidasa, e insulina.

- 5 17. Un método para modular la diabetes Tipo 2 en un mamífero, que comprende: administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente activa del estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula I,

10
15 en donde:

R es un miembro seleccionado del grupo consistente de un hidroxil, aralcoxi inferior, di-alquilamino inferior-alcoxi inferior, alcanamido inferior alcoxi inferior, benzamido-alcoxi inferior, ureido-alcoxi inferior, N'-alquil inferior-ureido-alcoxi inferior, alcoxi-carbamoilo inferior, alcoxi inferior halofenoxi sustituido, fenoxi carbamoil sustituido, carbonil alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior alquilamino inferior, alquilamino inferior halo sustituido, alquilamino inferior hidroxil sustituido, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxil inferior, ureido, y alcoxycarbonilamino; y

20
25 X es un halógeno; ó

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

299202

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

18. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula II,

5

10

en donde:

15 R^2 es un miembro seleccionado del grupo consistente de un fenil-alquilo inferior, alcanamido inferior-alquilo inferior, y benzamido-alquilo inferior.

19. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto es el acetato de 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)(-)-2-acetamidoetilo.

20. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto se administra por infusión intravenosa, liberación transdérmica o liberación oral.

20

21. El método de la reivindicación 17, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 3000 mg por día.

110
300 300

22. El método de la reivindicación 17, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 1500 mg por día.
23. El método de la reivindicación 17, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 5 a aproximadamente 250 mg por kg por día.
24. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto se administra junto con un transportador farmacéuticamente aceptable.
25. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto previene el desarrollo de resistencia a la insulina en un mamífero.
26. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto modula el síndrome ovárico policístico.
27. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto modula la Tolerancia Alterada a la Glucosa.
28. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto modula la obesidad.
29. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto modula la diabetes gestacional.
30. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto modula el síndrome X.
31. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto modula la arterioesclerosis.
32. El método de la reivindicación 17, en donde el compuesto se administra en combinación con un compuesto seleccionado del grupo consistente de: una sulfonilúrea u otro segretogogo de la

171
301 304

insulina, una tiazolidindiona, un fibrado, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, una biguanida, una resina enlazante de ácido biliar, ácido nicotínico, un inhibidor de α -glucosidasa, e insulina.

33. Un método para aliviar la hiperlipidemia en un mamífero, que comprende: administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente activa del estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula I,

en donde:

R es un miembro seleccionado del grupo consistente de un hidroxilo, aralcoxi inferior, di-alquilamino inferior-alcoxi inferior, alcanamido inferior-alcoxi inferior, benzamido-alcoxi inferior, ureido-alcoxi inferior, N'-alquil inferior-ureido-alcoxi inferior, alcoxi-carbamoilo inferior, alcoxi inferior halofenoxi sustituido, fenoxi carbamoilo sustituido, carbonil alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior alquilamino inferior, alquilamino inferior halo sustituido, alquilamino inferior hidroxilo sustituido, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxi inferior, ureido, y alcoxycarbonilamino; y

X es un halógeno; ó

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

352 200

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

34. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula II,

5

10

en donde:

R² es un miembro seleccionado del grupo consistente de un fenil-alquilo inferior, alcanamido inferior-alquilo inferior, y benzamido-alquilo inferior.

15

35. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto es el acetato de 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)(-)2-acetamidoetilo.

36. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto se administra por infusión intravenosa, liberación transdérmica o liberación oral.

20

37. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto disminuye los niveles de colesterol, los niveles de triglicéridos, o ambos.

38. El método de la reivindicación 33, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 3000 mg por día.

25

43
353 380

39. El método de la reivindicación 33, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 1500 mg por día.

40. El método de la reivindicación 33, en donde la cantidad administrada es de aproximadamente 5 a aproximadamente 250 mg por kg por día.

41. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto se administra junto con un transportador farmacéuticamente aceptable.

42. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto se administra en combinación con un compuesto seleccionado del grupo consistente de: una sulfonilúrea u otro segretogogo de la insulina, una tiazolidindiona, un fibrado, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, una biguanida, una resina enlazante de ácido biliar, ácido nicotínico, un inhibidor de α -glucosidasa, e insulina.

43. Una composición farmacéutica que comprende una transportador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente activa del estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula I,

en donde:

149
304209

R es un miembro seleccionado del grupo consistente de un hidroxilo, aralcoxi inferior, di-alquilamino inferior-alcoxi inferior, alcanamido inferior alcoxi inferior, benzamido-alcoxi inferior, ureido-alcoxi inferior, N'-alquil inferior-ureido-alcoxi inferior, alcoxi-carbamoilo inferior, alcoxi inferior halofenoxi sustituido, fenoxi carbamoilo sustituido, carbonil alquilamino inferior, N,N-dialquilamino inferior alquilamino inferior, alquilamino inferior halo sustituido, alquilamino inferior hidroxilo sustituido, alquilamino inferior sustituido con alcanoliloxi inferior, ureido, y alcoxycarbonilamino; y

X es un halógeno; ó una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el compuesto está sustancialmente libre de su estereoisómero (+).

44. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la composición farmacéutica modula la diabetes Tipo 2.

45. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la composición farmacéutica modula la resistencia a la insulina.

46. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la composición farmacéutica modula la hiperlipidemia.

47. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del estereoisómero (-) de un compuesto de fórmula II,

115 200
355

5 en donde:

R² es un miembro seleccionado del grupo consistente de un fenil-alquilo inferior, alcanamido inferior-alquilo inferior, y benzamido-alquilo inferior.

48. El método de la reivindicación 43, en donde el compuesto es el acetato de 4-clorofenil-(3-trifluorometilfenoxi)(-)-2-acetamidoetilo.

10 49. La composición farmacéutica de la reivindicación 43 en forma de una tableta o cápsula.

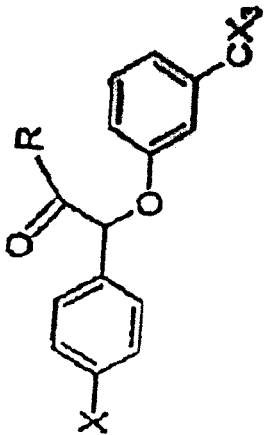
FORMATO DE DIGITALIZACION RELACION DE ANEXOS



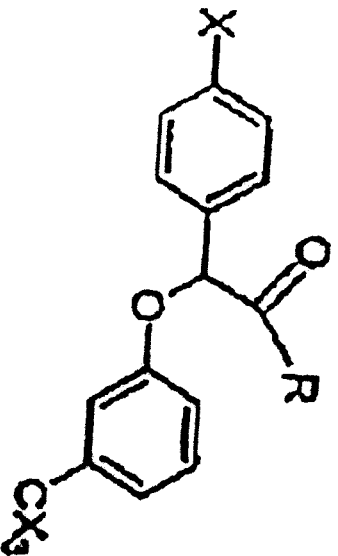
306

Expediente No		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	
10	OTROS:	

Observaciones: Sobre sellado de arte Final



(I)



(1)

137

2do. EXAMEN DE FORMA PATENTE DE INVENCION

Folio 311

Radicación no 00-41901

Concepto Técnico no 501

Clasificación Internacional de Patentes A61K 31/215

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 38 de la Decisión 486 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI ☒ NO ☐ Contiene un resumen de la invención (Art.26-e).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención (Art.27-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción de la invención (Art.26-b).
- SI ☒ NO ☐ NO ES APLICABLE ☐ Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art.26-d)
- SI ☒ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones. (Art.26-c).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Han sido desarrollados los productos y/o procedimientos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen. (Art. 26- h).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Los productos y/o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afroamericanas, o locales de los países miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones vigentes.(Art.26-i).
- SI ☐ NO ☒ La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico. (Art.26-J).
- SI ☒ NO ☐ La prioridad coincide con la materia reivindicada.
- SI ☒ NO ☐ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

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

1. Anexa nuevo capítulo reivindicatorio que reemplaza el originalmente presentado, con las correcciones sugeridas en el 1er examen de forma, folios 298 a 308
2. Adjunta nuevo extracto para publicación (folio 309) y el arte final (folio 310).

EXAMINADOR TÉCNICO

202041

Bogotá D. C., 19 marzo /02



308

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

2002-06-27
416

Folio 312

2020
Bogotá DCDoctora
DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN
Apoderada

REFERENCIA:	Radicación No.	00-41901
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No.	813
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Cúmplase

Dado en Bogotá DC, a los 17 ABR. 2002


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Bogotá, DC, 20-04-05 El extracto de esta solicitud fue publicado en el número 517 de la Gaceta de Propiedad Industrial, de fecha 27-06-02. El término hábil señalado por la ley expiró el 24-09-02 y SI ☐ NO ☒ se presentaron oposiciones por parte de terceros.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10

Conmutador: 382 0840

Fax: 382 2695

E-mail: info@sic.gov.co

www.sic.gov.co

Bogotá, D.C., Colombia

202042