

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 762**

51 Int. Cl.:

**C07D 285/24** (2006.01)

**C07D 249/12** (2006.01)

**A01N 37/44** (2006.01)

**A61P 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.05.2012 PCT/US2012/039011**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.11.2012 WO12162323**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.05.2012 E 12789268 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017 EP 2714669**

54 Título: **Hipertensión e hiperuricemia**

30 Prioridad:

**24.05.2011 US 201161489597 P**

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

**25.09.2017**

73 Titular/es:

**ARDEA BIOSCIENCES, INC. (100.0%)  
9390 Towne Centre Drive  
San Diego CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**MINER, JEFFREY**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 633 762 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Hipertensión e hiperuricemia

5 Referencia cruzada

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de Estados Unidos núm. 61/489,597, presentada el 24 de mayo de 2011.

10 Antecedentes de la invención

La hipertensión se trata con agentes antihipertensivos tales como los diuréticos tiazídicos, que pueden elevar los niveles séricos de ácido úrico.

15 Resumen de la invención

En una primera modalidad, se proporciona en la presente descripción Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este y alopurinol para usar en el tratamiento de la gota en un paciente que, además, se trata con un diurético tiazídico.

20

En la presente descripción se describe un método para tratar la hipertensión en un sujeto que lo necesite (por ejemplo, en donde dicho tratamiento no resulta en un aumento de los niveles séricos de ácido úrico, no resulta en niveles séricos de ácido úrico anormalmente elevados, no resulta en hiperuricemia, no resulta en niveles séricos de ácido úrico superiores a 6 mg/dL, o no resulta en el desarrollo de gota en el sujeto), el método comprende administrar al sujeto:

25

- a. un diurético tiazídico; y
- b. un inhibidor del transportador 4 de aniones orgánicos (OAT4).

30

En algunas modalidades, el diurético tiazídico se selecciona de hidroclorotiazida, bendroflumetiazida, benzotiadiazina, hidroflumetiazida, clorotiazida, meticlotiazida, politiazida, clortalidona, metolazona, indapamida, bumetanida, ácido etacrínico, furosemida o torsemida.

35

El inhibidor de OAT4 es el ácido 2-(5-bromo-4-(4-ciclopropilnaftalen-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)acético o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

40

En algunas modalidades, cualquier método descrito en la presente descripción comprende además administrar un inhibidor de URAT1 al sujeto. En modalidades específicas, el inhibidor de OAT4 y el inhibidor de URAT1 son el mismo fármaco.

45

En la presente descripción se describe un método para tratar la hipertensión en un sujeto que lo necesite, en donde dicho tratamiento no resulta en un aumento de los niveles séricos de ácido úrico, que comprende administrar al sujeto:

- a. hidroclorotiazida; y
- b. ácido 2-(5-bromo-4-(4-ciclopropilnaftalen-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)acético o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

50

En algunas modalidades se proporciona Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este y alopurinol para usar en la reducción del ácido úrico sérico, el tratamiento de la gota o la reducción de las incidencias de ácido úrico sérico elevado o gota en un sujeto que padece de hipertensión, en donde dicho sujeto, además, se trata con un diurético tiazídico. En modalidades específicas, el ácido úrico sérico elevado o gota se induce mediante la administración de una tiazida. En ciertas modalidades, se proporciona en la presente descripción Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este y alopurinol para usar en el tratamiento de un trastorno mediado por el OAT4 en un sujeto. En modalidades específicas, el trastorno mediado por el OAT4 es hiperuricemia mediada por OAT4 o gota mediada por OAT4.

55

En algunas modalidades, se proporciona en la presente descripción Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este y alopurinol para usar en la reducción de las incidencias de o la probabilidad de o revertir el diagnóstico de hiperuricemia o gota en un paciente que recibe tratamiento con tiazida.

60

En ciertas modalidades, se proporciona en la presente descripción Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este y alopurinol para usar en la reducción de los niveles séricos de ácido úrico en un paciente que padece de hipertensión, en donde el paciente recibe un diurético tiazídico, y en donde (ausente la administración del OAT- 4) la administración del diurético tiazídico resulta en niveles elevados de ácido úrico en suero.

65

En algunas modalidades, se proporciona en la presente descripción una composición que comprende:

- a. un diurético tiazídico;

- b. Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y  
c. un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En modalidades específicas, se proporciona en la presente descripción una composición que comprende:

- 5 a. hidrocortizida;  
b. ácido 2-(5-bromo-4-(4-ciclopropilnaftalen-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-iltio) acético o una sal farmacéuticamente aceptable de este; y  
c. un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 Breve descripción de los dibujos

Las nuevas características de la invención se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención se obtendrá por referencia a la siguiente descripción detallada que muestra las modalidades ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la invención, y las figuras adjuntas en las que:

La Figura 1 representa una representación pictórica de dos mecanismos para la hiperuricemia inducida por Hidrocortizida (HCTZ); a) Directo - aumento de HCTZ de la captación de ácido úrico por OAT4; y b) Indirecto - HCTZ aumenta una proteína estimulante del OAT4 (NHE3).

20 La Figura 2 representa la actividad de transporte del sustrato 6-carboxifluoresceína (CF) por el OAT4 incubado con 50  $\mu\text{M}$  de Lesinurad (negro) o con vehículo (gris claro) en células HEK293T transfectadas transitoriamente con (a) plásmido de control que carece del OAT4 (pCMV) u (b) OAT4.

La Figura 3 representa células HEK293T transfectadas transitoriamente con OAT4 (gris) o plásmido de control que carece del OAT4 (pCMV, negro) incubadas con sustrato 6-carboxifluoresceína (CF) con varias cantidades (0, 0,5, 1, 2 nM) de ácido úrico frío lo que ilustra que el urato actúa como un sustrato competitivo para OAT4 de CF ( $\text{EC}_{50} \sim 900 \mu\text{M}$ ).

La Figura 4 representa la cantidad de transporte de urato por OAT4 (cpm) en presencia de cantidades variables de Lesinurad (■) y benzobromarona (▲). La  $\text{IC}_{50}$  OAT4 de Lesinurad = 5  $\mu\text{M}$ ; y Benzobromarona = 10  $\mu\text{M}$ .

La Figura 5 representa el por ciento de inhibición del transporte de UA en células 293T que expresan URAT1 y/o OAT4 por Lesinurad en concentraciones variables, lo que indica que Lesinurad inhibe URAT1 y OAT4 con potencia similar.

La Figura 6 representa el por ciento de transporte de sulfato de 3H-estrona (ES) en células 293T que expresan de forma estable OAT4, en presencia (—) o ausencia (- - -) de 1 mM de Hidrocortizida (HCTZ), y concentraciones variables de Lesinurad, lo que indica que HCTZ no tiene efecto sobre la inhibición de la actividad del transportador OAT4 mediada por Lesinurad.

35 La Figura 7 representa la actividad de transporte de OAT4 de (a) 6-carboxifluoresceína (CF-5 $\mu\text{M}$ ) y (b) 14 Los sustratos de ácido úrico (UA - 100  $\mu\text{M}$ ) en presencia de vehículo, Lesinurad, oxipurinol o alopurinol (100  $\mu\text{M}$  - 5 min de incubación) en células HEK293 que expresan OAT4, lo que indica que oxipurinol y alopurinol no inhiben la actividad de transporte de OAT4.

La Figura 8 representa la captación porcentual de sulfato de 3H-estrona (ES) en ovocitos que expresan OAT4 inyectados con diversas concentraciones de Lesinurad (25, 50, 100  $\mu\text{M}$  - exterior, 22, 44, 444  $\mu\text{M}$  - interior) o vehículo, lo que indica que Lesinurad inhibe el OAT4 principalmente del lado extracelular (apical).

La Figura 9 representa la cantidad de Lesinurad marcado con <sup>14</sup>C (medido por conteo de centelleo) dentro y fuera de ovocitos que expresan OAT4 después que se inyectan con Lesinurad (50 nL) y se incuban durante 30 minutos, lo que indica que Lesinurad permanece dentro de los ovocitos inyectados durante la duración del experimento.

45 La Figura 10A representa un esquema de un diseño de estudio clínico de fase 2.

La Figura 10B representa la proporción de pacientes con niveles séricos de ácido úrico (sUA) inferiores a 6 mg/dL, separados entre los que toman diuréticos (negro) y los que no toman diurético (gris claro) para las diversas dosis de Lesinurad e indican que los pacientes que recibieron diuréticos habían respondido bien a Lesinurad.

50 Descripción detallada de la invención

Aunque se han mostrado y descrito en la presente descripción ciertas modalidades de la presente invención, será evidente para los expertos en la técnica que tales modalidades se proporcionan a modo de ejemplo solamente. Numerosas variaciones, cambios y sustituciones se les ocurrirán a los expertos en la técnica sin apartarse de la invención. Debe entenderse que varias alternativas a las modalidades descritas en la presente descripción son, en algunas circunstancias, empleadas en la práctica de la invención. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan el alcance de la invención y que estén cubiertos de ese modo los métodos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones y sus equivalentes.

60 Diuréticos e hiperuricemia

La hipertensión es frecuente en los pacientes con gota y se tratan frecuentemente con agentes antihipertensivos, tales como los diuréticos tiazídicos, que se conocen desde la década de 1950 por elevar los niveles séricos de ácido úrico (*Healey y otros*, NEJM, 1959, 261, 1358). Por ejemplo, un estudio reveló que el uso de diuréticos tiazídicos en dosis de

25 mg/día o superiores, se asocia con un riesgo significativamente mayor para el comienzo de la terapia contra la gota (Gurwitz y otros, *J Clin. Epidemiol.* 1997, 50(8), 953).

Entretanto, las terapias reductoras de urato se consideran que funcionan menos eficientemente en pacientes que toman diuréticos concomitantemente (Reyes, *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 2003, 17(5-6), 397). Se cree que este efecto está mediado por la mejor reabsorción de ácido úrico debido a la activación del OAT4 por dos mecanismos diferentes (ver la Figura 1); ya sea el aumento directo de la captación de ácido úrico por OAT4 (Hagos y otros, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2007, 18, 430), o indirecto a través del aumento tiazídico de una proteína estimuladora del OAT4 (intercambiador de sodio/hidrógeno 3; NHE3) (Nijenhuis y otros, *J. Clin. Invest.* 2005, 115, 1651).

Adicionalmente a URAT1, el transportador 4 de aniones orgánicos (OAT4) se considera un importante regulador de la excreción de urato. El transportador 4 de aniones orgánicos (OAT4) es un transportador de urato, implicado, además, en la secreción renal de fármacos antihipertensivos tales como diuréticos tiazídicos. En algunos casos, el OAT4 intercambia estos fármacos contra urato, lo que aumenta de este modo la reabsorción de ácido úrico, resultante del efecto hiperuricémico. Se ha postulado que OAT4 puede ser responsable de la hiperuricemia asociada con algunos diuréticos.

En algunos casos, el uso de diuréticos se vincula con el aumento del riesgo de gota y el aumento de los niveles séricos de ácido úrico. (Arch. Intern. Med. 2005; 165: 742-8.) De hecho, todos los diuréticos del asa y muchos diuréticos de tipo tiazídico elevan el urato sérico, con la excepción del ácido tienílico (que es uricosúrico y reduce el urato sérico). Los bloqueadores de los canales de sodio (tales como amilorida y triamtereno) y los bloqueadores de los receptores de aldosterona (tales como espironolactona y eplerenona) elevan, además, los niveles séricos de urato, aunque los mecanismos son probablemente diferentes para cada clase de fármaco. La excreción fraccionada de urato se reduce en los sujetos tratados con diuréticos (*J. Am. Soc. Nephrol.* 18:3101, 2007). En algunos casos, los mecanismos que pueden explicar estas observaciones incluyen posibles efectos de volumen de los diuréticos, inhibición de los transportadores de secreción de urato en el túbulo proximal (NPT) y activación directa o indirecta de OAT4 (SLC22A11) y URAT1. (Reyes, *Cardiovascular Drugs and Serum Uric Acid*, Cardiovascular Drugs and Therapy 17:397, 2004.)

En algunos casos, los diuréticos funcionan como sustratos de contraión, secretados en la orina por el OAT4, que promueve la reabsorción del ácido úrico. Por ejemplo, la hidroclorotiazida (*J. Am. Soc. Nephrol.* 18:430, 2007) y torasemida (*J. Am. Soc. Nephrol.* 18:3101, 2007) aumentan la actividad de transporte de ácido úrico de OAT4.

La evidencia genética apoya el papel de OAT4 y URAT1 en la gota, la hiperuricemia y la hiperuricemia inducida por diuréticos con el OAT4, por lo que dos estudios de asociación muestran asociaciones independientes de OAT4 (*Circ. Cardiovasc. Genet.* 2010; 3; 523-530 y Kolz y otros, 2009. Vol 5:6), y otro estudio muestra la asociación de OAT4 con hiperuricemia inducida por diuréticos (McAdams presentation ACR Arthritis & Rheumatism, volumen 63, noviembre de 2011 Abstract Supplement).

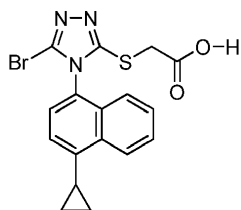
En algunos casos, las alteraciones del volumen de fluidos son un efecto dominante de los diuréticos a través del bloqueo de los transportadores de sodio, y la absorción de urato es paralela a la absorción de NaCl por el túbulo proximal. El urato de hierro y los niveles séricos de ácido úrico se correlacionan bien con el estado del volumen. La hiperuricemia se anula por la carga de sales de los pacientes tratados con diuréticos, consistente con el estado de volumen que desempeña un papel importante. (disminución de 2 mg/dL en el sUA entre pacientes hipertensos con restricción de sales de ~20 mequ/día frente a 250 mEqu/día de carga de sales, con hiperuricemia en pacientes privados de sales). En algunos casos, los diuréticos causan la disminución de la excreción fraccionaria de urato, donde los efectos de volumen sobre el sUA podrían deberse a alteraciones en el balance de sodio y de protones en las células del túbulo proximal lo que conduce a la activación de URAT1 y OAT4. (*Am. J. Physiol.* 1996 Nov; 271(5 Pt 2):F1093-9, Nijenhuis y otros, *J. Clin. Invest.* 115:1651, 2005; *J. Am. Soc. Nephrol.* 18: 3101-3109, 2007).

Un estudio (Arthritis & Rheumatism, volumen 63, Noviembre de 2011 Abstract Supplement, Abstracts of the Am Coll of Rheumatology/Assoc of Rheumatology Health Professionals Annual Scientific Meeting) concluyó que el mayor riesgo de gota relacionado con el uso de diuréticos en sujetos hipertensos, sólo se observó entre aquellos con un mayor puntaje de riesgo genético para los niveles elevados de urato sérico, lo que sugiere una interacción diurética mediante el gen de urato, que delimita una importante interacción de rasgos genéticos que influyen en el metabolismo del urato y el manejo con el uso de diuréticos en sujetos hipertensos.

Lesinurad

Lesinurad es el nombre genérico del ácido 2-(5-bromo-4-(4-ciclopropilnaftalen-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-iltio) acético cuya estructura química es:

5



10

En algunos casos, el término Lesinurad incluye, además, la sal sódica de Lesinurad, es decir, 2-(5-bromo-4-(4-ciclopropilnaftalen-1-il)-4H-1,2,4-triazol-3-iltio)acetato sódico.

15

Lesinurad es una terapia reductora de urato en el desarrollo clínico para el tratamiento de la gota. En algunos casos, Lesinurad bloquea la reabsorción de urato (UA) dentro del túbulo proximal del riñón mediante la inhibición del transportador URAT1.

Tiazidas / Diuréticos tiazídicos

20

Las tiazidas o diuréticos tiazídicos se usan para tratar la hipertensión (presión arterial alta) y el edema (tal como el causado por enfermedades del corazón, hígado o riñón), lo que reduce el riesgo de muerte, accidente cerebrovascular, ataque cardíaco e insuficiencia cardíaca debido a la hipertensión. Las tiazidas son el diurético más comúnmente usado como tratamiento de primera línea recomendado en Estados Unidos y un tratamiento recomendado en Europa. Se entiende generalmente que las tiazidas actúan mediante inhibición de la reabsorción de iones sodio y cloruro desde los túbulos contorneados distales en los riñones, por bloqueo del simportador de Na<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> sensible a tiazida, lo que resulta en un aumento de la excreción de sodio y, de ese modo, en el aumento de la excreción de agua, es decir, el aumento de la micción. En algunos casos, la disminución de la cantidad de agua en el cuerpo puede resultar en un menor volumen de sangre, lo que reduce, de ese modo, el gasto cardíaco y, en última instancia, que conduce a una caída en la presión arterial.

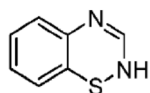
25

30

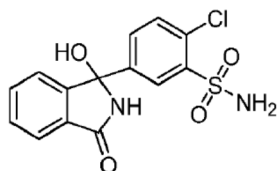
El término "tiazida" se refiere a un fármaco que actúa en un "receptor tiazídico", e incluye "diuréticos similares a tiazidas" que actúan similarmente a las tiazidas pero que no contienen la estructura molecular de benzotiadiazina. Ejemplos de "diuréticos similares a tiazidas" incluyen, pero sin limitarse a, bendroflumetiazida, benzotiazida, clorotiazida, hidroclorotiazida, hidroflumetiazida, indapamida, metilotiazida, politiazida, quinetazona, triclorometiazida, clortalidona y metolazona.

35

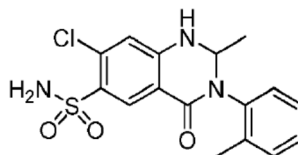
40



Benzotiadiazina



Clortalidona



Metolazona

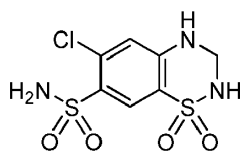
45

Hidroclorotiazida

50

La hidroclorotiazida, 6 cloro-1,1-dioxo-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida (HCTZ, HCT o HZT) se prescribe frecuentemente para el tratamiento de la hipertensión y la insuficiencia cardíaca congestiva.

55



60

Se entiende generalmente que la hidroclorotiazida actúa sobre los riñones para reducir la reabsorción de sodio e inhibir la capacidad de los riñones para retener el agua, lo que reduce de ese modo el volumen sanguíneo, por disminución del retorno de sangre al corazón y, así el gasto cardíaco. La hidroclorotiazida compite por el sitio del cloruro en un cotransportador de Na<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>, lo que perjudica de ese modo el transporte de sodio. Un estudio observó que el uso de hidroclorotiazida resultó en un aumento de 2,6 veces de la captación de ácido úrico mediada por OAT4.

65

Transportador 4 de aniones orgánicos (OAT4)

5 El transportador 4 de aniones orgánicos humano (hOAT4) se expresa en el riñón y, en algunos casos, codifica una proteína de 550 residuos de aminoácidos. En algunos casos, hOAT4 está implicado en la secreción y reabsorción renales de sustancias endógenas, así como también, muchos fármacos y xenobióticos. Generalmente, OAT4 puede estar presente en la membrana del lado luminal del túbulo renal proximal y media el transporte de aniones orgánicos tales como sulfato de esteron (ES), sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA) y ocratoxina A, p-aminohipurato (PAH).

10 La benzobromarona y la 6-hidroxibenzobromarona son inhibidores de OAT4, (lo que favorece de ese modo la excreción de ácido úrico). La benzobromarona inhibe la captación de 3H-estrona por OAT4, con una IC50 de 5,4  $\mu\text{mol/L}$ , y la 6-hidroxibenzobromarona inhibe la captación de sulfato de 3H-estrona por OAT4 con una IC50 de 3,2  $\mu\text{mol/L}$ .

## EJEMPLOS

15 Los ejemplos y preparaciones proporcionados a continuación ilustran y ejemplifican los compuestos de la presente invención y métodos para preparar tales compuestos. Debe entenderse que el alcance de la presente invención no se limita en modo alguno por el alcance de los siguientes ejemplos y preparaciones.

El transportador de urato OAT4 se expresó establemente en células y ovocitos cultivados.

20 Para células cultivadas, se produjeron células HEK293 que expresaban establemente los transportadores mediante transfección de construcciones de ADN que portaban los transportadores, selección de antibióticos y selección clonal de clones con alta actividad de transportadores. Alternativamente, las células que expresan transitoriamente los transportadores se produjeron mediante transfección inversa de células HEK293T. Los transfectantes se sembraron en placas a alta densidad sobre placas de pocillos múltiples revestidas con poli-L-lisina y se ensayaron 1-2 días después. Los resultados fueron similares para las células de expresión estable y transitoria.

Los ovocitos se inyectaron con ARNc para la expresión de OAT4 y se ensayaron 3-4 días después.

30 Los ensayos de actividad se realizaron mediante incubación de las células con sustratos transportadores en tampón de ensayo que contiene gluconato de sodio 125 mM, gluconato de potasio 4,8 mM, fosfato de sodio monobásico 1,2 mM, sulfato de magnesio 1,2 mM, gluconato de calcio 1,3 mM, glucosa 5,6 mM y HEPES 25 mM pH 7,1. Se añadieron fármacos de ensayo a las células antes de la adición de sustrato durante los tiempos indicados. Los sustratos usados fueron 6-carboxifluoresceína (CF) a 5  $\mu\text{M}$ , sulfato de 3H-estrona (ES) a 50 nM y 14C-ácido úrico (UA) a 100  $\mu\text{M}$ . Para las células transfectadas, los sustratos se incubaron durante 2 minutos y después se eliminaron por aspiración y las células se lavaron tres veces en un tampón de lavado que contenía gluconato sódico 125 mM y HEPES 25 mM pH 7,1. Las células después se lisaron en hidróxido de sodio 1 M antes de la medición de fluorescencia para el transporte de CF y el recuento de centelleo líquido para ES y UA. Los ensayos de ovocitos se realizaron de forma similar, excepto que se inyectaron los fármacos de ensayo y luego se midió el transporte después de 30 minutos (ES) o 60 minutos (UA). Los resultados de estos ensayos se resumen en las figuras que se enumeran a continuación.

40 La Figura 1 representa una representación pictórica de dos mecanismos para la hiperuricemia inducida por Hidroclorotiazida (HCTZ); a) Directo - aumento de HCTZ de la captación de ácido úrico por OAT4; y b) Indirecto - HCTZ aumenta una proteína estimulante del OAT4 (NHE3).

45 La Figura 2 representa la actividad de transporte del sustrato 6-carboxifluoresceína (CF) por el OAT4 incubado con 50  $\mu\text{M}$  de Lesinurad (negro) o con vehículo (gris claro) en células HEK293T transfectadas transitoriamente con (a) plásmido de control que carece del OAT4 (pCMV) u (b) OAT4.

50 La Figura 3 representa células HEK293T transfectadas transitoriamente con OAT4 (gris) o plásmido de control que carece del OAT4 (pCMV, negro) incubadas con sustrato 6-carboxifluoresceína (CF) con varias cantidades (0, 0,5, 1, 2 nM) de ácido úrico frío lo que ilustra que el urato actúa como un sustrato competitivo para OAT4 de CF (EC50  $\sim$ 900  $\mu\text{M}$ ).

55 La Figura 4 representa la cantidad de transporte de urato por OAT4 (cpm) en presencia de cantidades variables de Lesinurad (■) y benzobromarona (▲). La IC50 OAT4 de Lesinurad = 5  $\mu\text{M}$ ; y Benzobromarona = 10  $\mu\text{M}$ .

La Figura 5 representa el por ciento de inhibición del transporte de UA en células 293T que expresan URAT1 y/o OAT4 por Lesinurad en concentraciones variables, lo que indica que Lesinurad inhibe URAT1 y OAT4 con potencia similar.

60 La Figura 6 representa el por ciento de transporte de sulfato de 3H-estrona (ES) en células 293T que expresan de forma estable OAT4, en presencia (—) o ausencia (- - -) de 1 mM de Hidroclorotiazida (HCTZ), y concentraciones variables de Lesinurad, lo que indica que HCTZ no tiene efecto sobre la inhibición de la actividad del transportador OAT4 mediada por Lesinurad.

65 La Figura 7 representa la actividad de transporte de OAT4 de los sustratos (a) 6-carboxifluoresceína (CF-5 $\mu\text{M}$ ) y (b)

14C-ácido úrico (UA - 100  $\mu$ M) en presencia de vehículo, Lesinurad, oxipurinol o alopurinol (100  $\mu$ M - 5 min de incubación) en células HEK293 que expresan OAT4, lo que indica que oxipurinol y alopurinol no inhiben la actividad de transporte de OAT4.

5 La Figura 8 representa la captación porcentual de sulfato de 3H-estrona (ES) en ovocitos que expresan OAT4 inyectados con diversas concentraciones de Lesinurad (25, 50, 100  $\mu$ M - exterior, 22, 44, 444  $\mu$ M - interior) o vehículo, lo que indica que Lesinurad inhibe el OAT4 principalmente del lado extracelular (apical).

10 La Figura 9 representa la cantidad de Lesinurad marcado con <sup>14</sup>C (medido por conteo de centelleo) dentro y fuera de ovocitos que expresan OAT4 después que se inyectan con Lesinurad (50 nL) y se incuban durante 30 minutos, lo que indica que Lesinurad permanece dentro de los ovocitos inyectados durante la duración del experimento.

15 La Figura 10A representa un esquema de un diseño de estudio clínico de fase 2. El estudio fue un ensayo clínico doble ciego controlado con placebo de 4 semanas de duración en 208 pacientes con gota que no respondían adecuadamente al alopurinol con urato sérico (sUA)  $\geq$  6 mg/dL mientras recibían una dosis estable de alopurinol durante al menos 6 semanas. Se añadió una de tres dosis de Lesinurad o placebo coincidente al régimen de alopurinol de los pacientes. El criterio principal de valoración del estudio fue la reducción media del sUA en la semana 4, con el criterio de valoración secundario clave, la proporción de sujetos con sUA < 6,0 mg/dL en la semana 4. Un pequeño número de pacientes en este ensayo recibió un diurético tiazídico durante el período de tratamiento; sus tasas de respuesta se compararon con aquellos pacientes que no recibieron diuréticos tiazídicos concomitantes y los resultados se presentaron en la Figura 20 10B. Esta figura representa la proporción de pacientes con niveles séricos de ácido úrico inferiores a 6 mg/dL, separados entre los que toman diuréticos (negro) y los que no toman diurético (gris claro) para las diversas dosis de Lesinurad e indican que los pacientes que reciben diuréticos habían respondido bien a Lesinurad.

25

Reivindicaciones

- 5 1. Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este y alopurinol para usar en el tratamiento de la gota en un paciente que, además, se trata con un diurético tiazídico.
2. Lesinurad sódico y alopurinol para usar de conformidad con la reivindicación 1.
- 10 3. Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este y alopurinol para usar de conformidad con la reivindicación 1, en donde el diurético tiazídico es hidroclorotiazida.
4. Lesinurad sódico y alopurinol para usar de conformidad con la reivindicación 1, en donde el diurético tiazídico es hidroclorotiazida.
- 15 5. Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este para usar en el tratamiento de la gota en un paciente que además se trata con un diurético tiazídico y con alopurinol donde el tratamiento sin Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este podría no ser adecuado.
6. Lesinurad sódico para usar de conformidad con la reivindicación 5.
- 20 7. Lesinurad o una sal farmacéuticamente aceptable de este para usar de conformidad con la reivindicación 5, en donde el diurético tiazídico es hidroclorotiazida.
- 25 8. Lesinurad sódico para usar de conformidad con la reivindicación 6, en donde el diurético tiazídico es hidroclorotiazida.
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60



FIG. 1

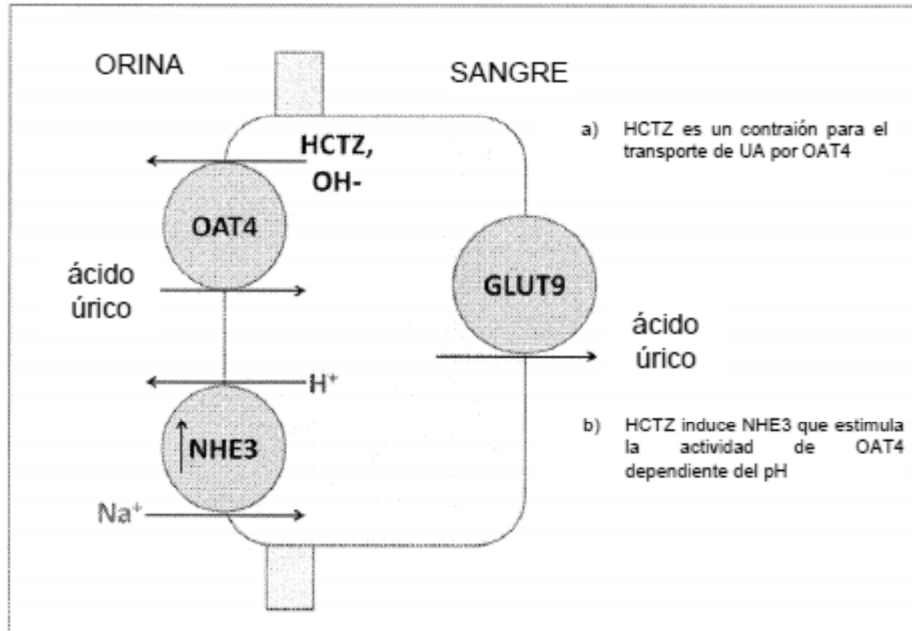


FIG. 2

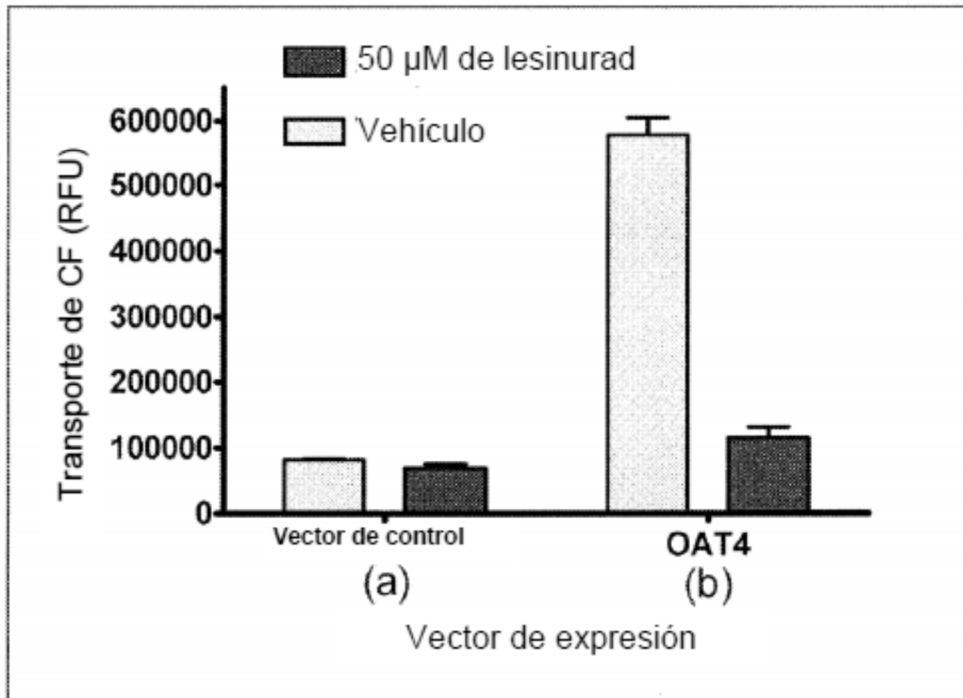


FIG. 3

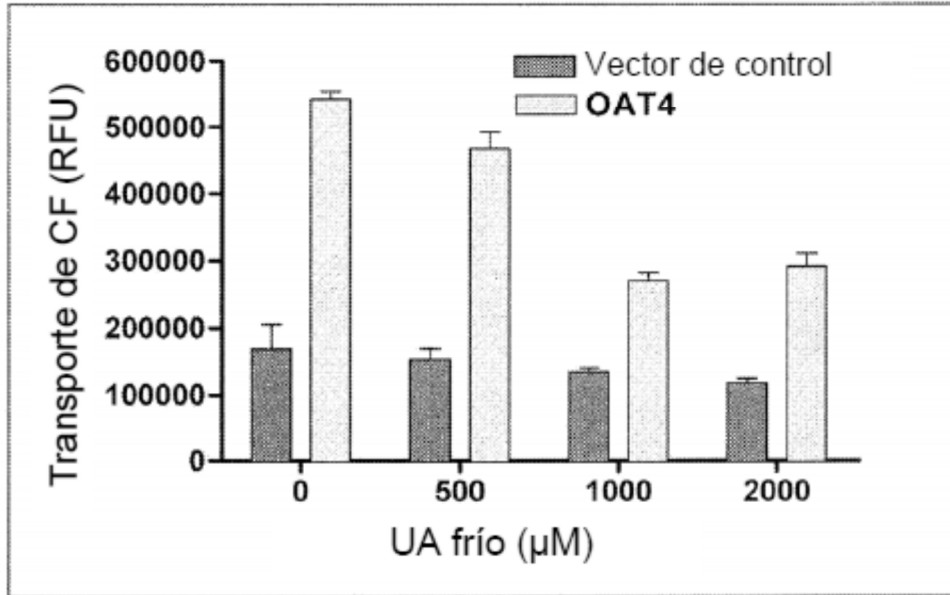


FIG. 4

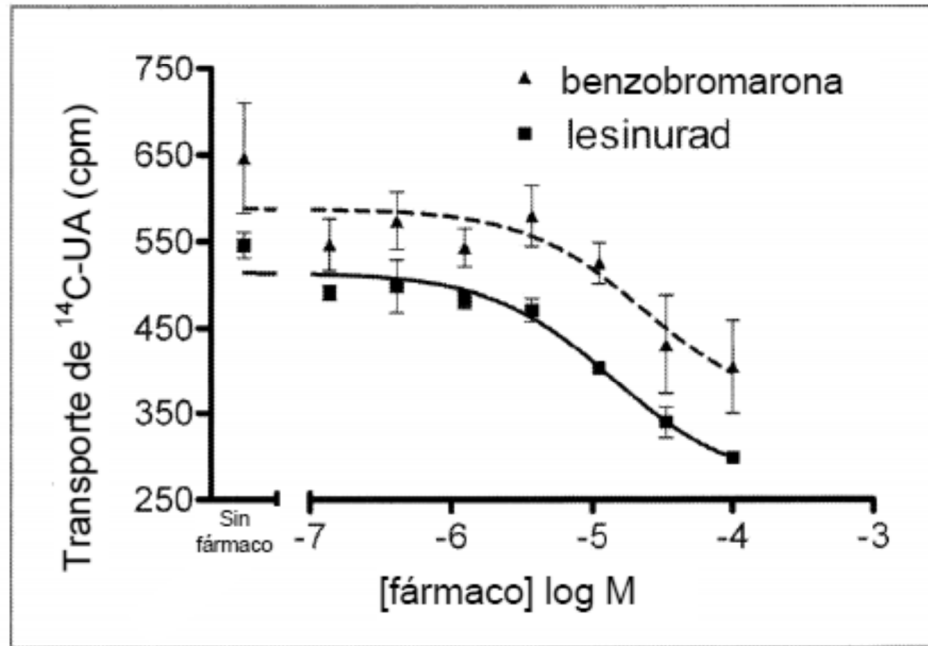


FIG. 5

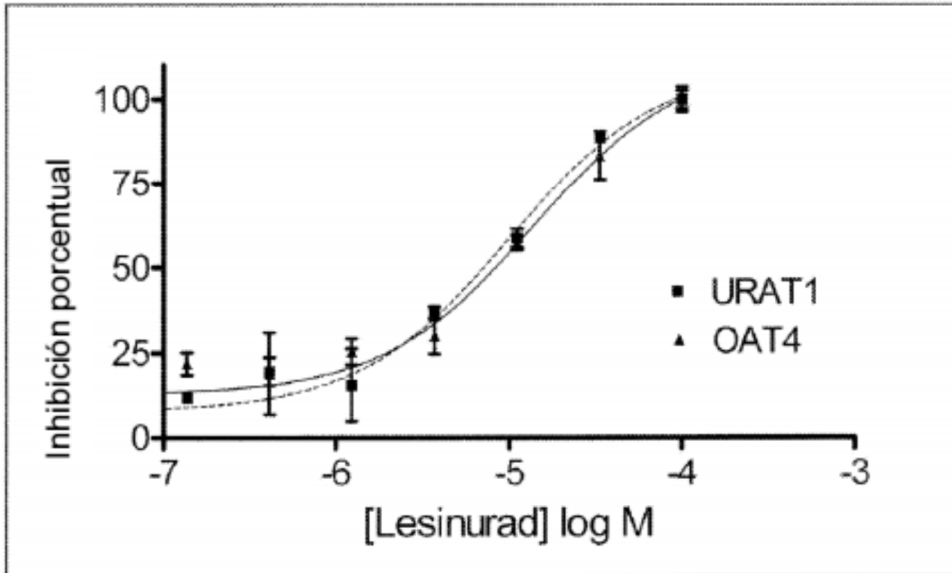


FIG. 6

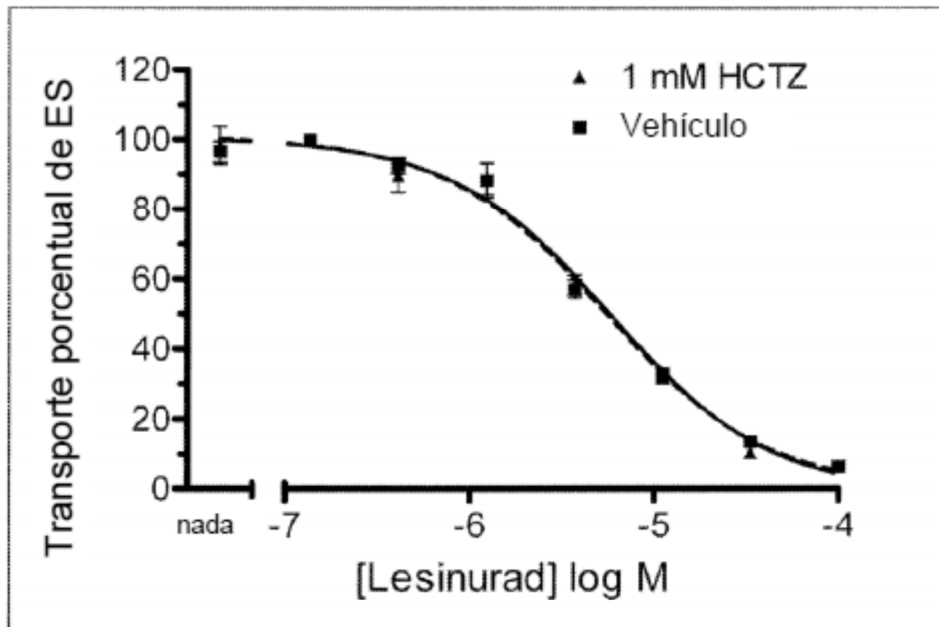
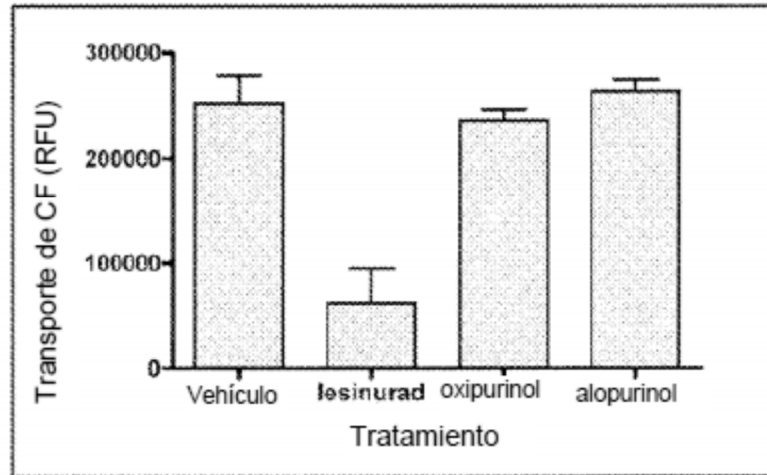
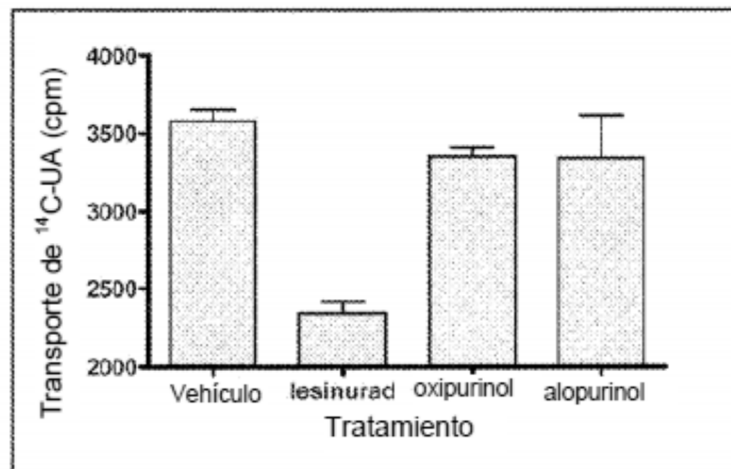


FIG. 7



(a)



(b)

FIG. 8

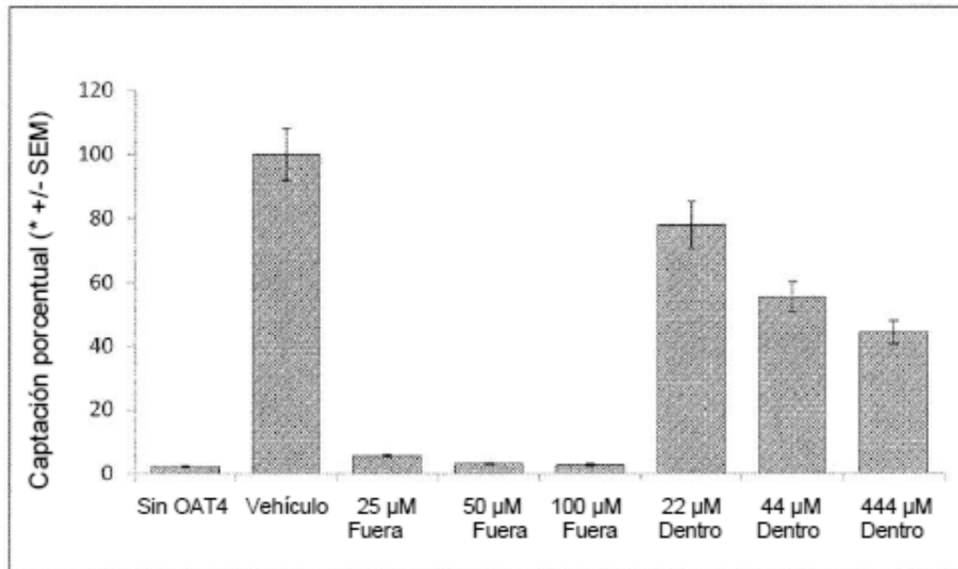




FIG. 9

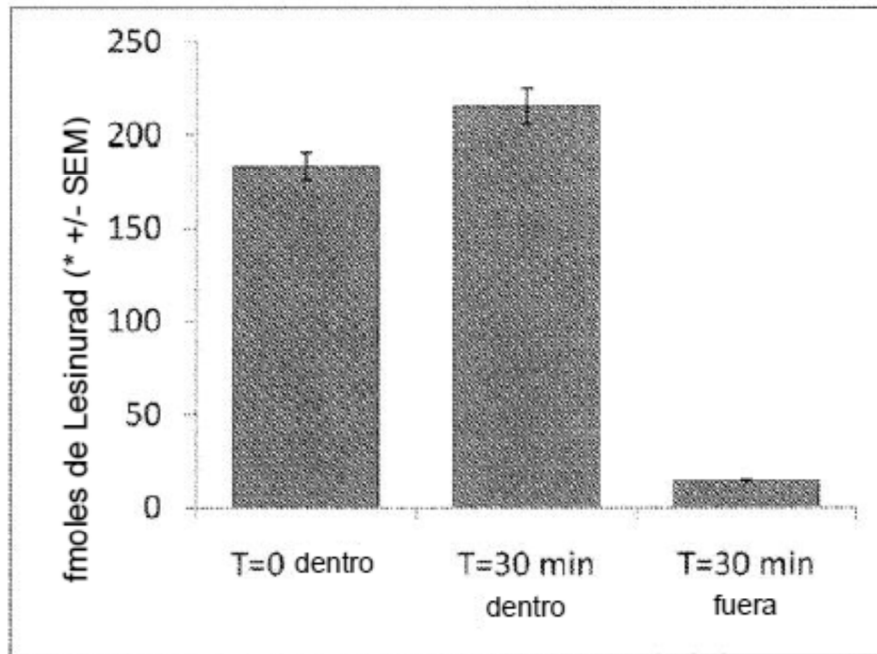


FIG. 10A

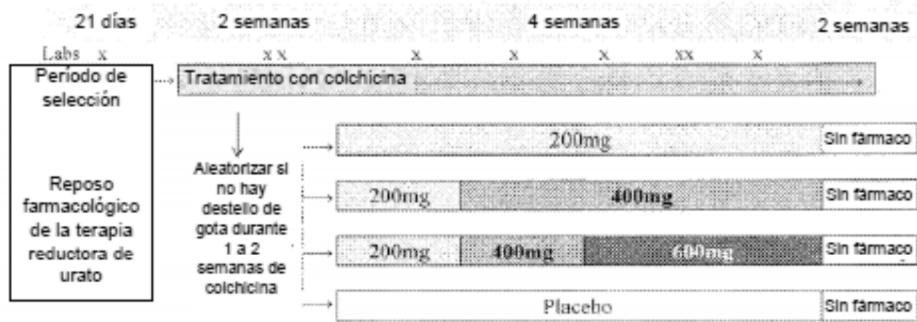


FIG. 10B

