

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 863**

21 Número de solicitud: 201730326

51 Int. Cl.:

A61K 31/625 (2006.01)

A61P 13/04 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

10.03.2017

43 Fecha de publicación de la solicitud:

30.10.2017

Fecha de concesión:

13.09.2018

45 Fecha de publicación de la concesión:

20.09.2018

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD DE GRANADA (50.0%)
HOSPITAL REAL. AVDA. DEL HOSPICIO S/N
18071 GRANADA (Granada) ES y
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA (50.0%)

72 Inventor/es:

DÍAZ GAVILÁN, Mónica;
GÓMEZ VIDAL, José Antonio;
MOYA GARZÓN, María Dolores;
SALIDO RUIZ, Eduardo;
MARTÍN HIGUERAS, Cristina y
FERNANDES, Miguel Xavier

54 Título: **COMPUESTOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR LA ACUMULACIÓN DE OXALATO**

57 Resumen:

Compuestos para el tratamiento de enfermedades causadas por la acumulación de oxalato.

La presente invención se refiere al uso de derivados del ácido salicílico, para el tratamiento de enfermedades o patologías relacionadas la actividad de las enzimas GO y/o PRODH2, en particular en enfermedades relacionadas con un exceso de oxalato, y para el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal (uremia o hiperazoemia) que reciben hemodiálisis o diálisis peritoneal, en particular pacientes tratados con ácido ascórbico (vitamina C), que se metaboliza a oxalato o de pacientes con fibromialgia y dolor vulvar.

ES 2 639 863 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

DESCRIPCIÓN

COMPUESTOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR LA ACUMULACIÓN DE OXALATO

SECTOR DE LA TÉCNICA

5 La presente invención se encuadra en general en el campo de la química farmacéutica. Concretamente, se describen compuestos derivados de ácido salicílico y su aplicación para el tratamiento de enfermedades causadas por la actividad de las enzimas GO y/o PRODH2, más concretamente enfermedades causadas por la producción excesiva o acumulación de oxalato.

10

ESTADO DE LA TECNICA

Hiperoxalurias

15 El término hiperoxaluria hace referencia a una elevada concentración de oxalato en orina. Existen distintas causas que pueden dar lugar a dicha situación. Atendiendo a estas causas, las hiperoxalurias se dividen en primarias y secundarias.

20 Las hiperoxalurias primarias (PH) son un grupo de alteraciones genéticas, autosómicas recesivas, que implican fallos enzimáticos conducentes a una sobreproducción endógena de oxalato. Se han descrito tres tipos de PH (PH1, PH2 y PH3) siendo PH1 la más frecuente y agresiva. [(1) Bhasin, B. Primary and Secondary Hyperoxaluria: Understanding the Enigma. World Journal of Nephrology 2015, 4 (2), 235]. El mismo error genético que da lugar a PH3 se ha relacionado también con la litiasis idiopática por oxalato. [(1) Monico, C. G.; Rossetti, S.; Belostotsky, R.; Cogal, A. G.; Herges, R. M.; Seide, B. M.; Olson, J. B.; Bergstrahl, E. J.; Williams, H. J.; Haley, W. E.; et al. Primary Hyperoxaluria Type III Gene HOGA1 (Formerly DHPSL) as a Possible Risk Factor for Idiopathic Calcium Oxalate Urolithiasis. CJASN 2011, 6 (9), 2289–2295.]

30 Las hiperoxalurias secundarias pueden deberse a una absorción excesiva de oxalato o sus precursores a nivel intestinal. Esto está relacionado con una dieta rica en dichos precursores o bien, en el caso de la hiperoxaluria entérica, con una absorción alterada posterior a una disección intestinal. [(1) Cochat, P.; Rumsby, G. Primary Hyperoxaluria. New England Journal of Medicine 2013, 369 (7), 649–658.

35 (2) Lorenz, E. C.; Michet, C. J.; Milliner, D. S.; Lieske, J. C. Update on Oxalate

Crystal Disease. *Curr Rheumatol Rep* 2013, 15 (7), 340. (3) Karaolani, G.; Lionaki, S.; Moris, D.; Palla, V.-V.; Vernadakis, S. Secondary Hyperoxaluria: A Risk Factor for Kidney Stone Formation and Renal Failure in Native Kidneys and Renal Grafts. *Transplantation Reviews* 2014, 28 (4), 182–187].

5

Hiperoxaluria primaria tipo 1

La hiperoxaluria primaria tipo 1 (PH-1) es una enfermedad severa y hereditaria que se debe a una deficiencia de la enzima AGT (codificada por el gen *Agxt1*) en hepatocitos [Zhang, X.; Roe, S.M.; Hou, Y.; Bartlam, M.; Rao, Z.; Pearl, L.H.; Danpure, C.J. *J. Mol. Biol.* **2003**, 331, 643-652].

10

Esta enzima, AGT, se encarga del metabolismo del glioxilato en los peroxisomas hepáticos mediante transaminación a glicina. En PH-1, una falta de actividad AGT o su localización errónea en las mitocondrias, tiene como consecuencia una acumulación de glioxilato. Éste pasa entonces a ser metabolizado mediante oxidación a oxalato, proceso principalmente catalizado por las enzimas glicolato oxidasa (GO) en los peroxisomas y lactato deshidrogenasa (LDH) en el citoplasma. Un exceso en la producción de oxalato, que únicamente puede ser excretado en orina, tiene como consecuencia la saturación de la capacidad de renal y la precipitación del mismo en forma de cristales insolubles de oxalato cálcico. Estos cristales producen daño en el tejido renal mermando la capacidad excretora del mismo hasta enfermedad renal terminal. Al avanzar el daño renal la acumulación de oxalato se hace generalizada produciendo alteraciones en vasos sanguíneos, huesos, articulaciones, retina, piel, médula ósea, corazón y sistema nervioso central, hasta provocar la muerte de los pacientes.

15

20

25

PH-1 es una enfermedad rara con una incidencia estimada en Europa de 1:100000 nacimientos al año [Cochat, P.; Hulton, S.A.; Acquaviva, C.; Danpure, C. J.; Daudon, M.; Marchi, M. D.; Fargue, S.; Groothoff, J.; Harambat, J.; Hoppe, B.; et al. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012, 27, 1729–1736.] pero que presenta una frecuencia inusualmente elevada en las Islas Canarias [(1) Lorenzo, V.; Alvarez, A.; Torres, A.; Torregrosa, V.; Hernández, D.; Salido, E. *Kidney Int.* 2006, 70, 1115–1119. (2) Santana, A.; Salido, E.; Torres, A.; Shapiro, L. J. *PNAS* 2003, 100, 7277–7282].

30

35

Tratamiento de Hiperoxaluria

Actualmente no existe un tratamiento farmacológico efectivo para hiperoxaluria, y en particular para PH-1. Los pacientes son tratados mediante ingestas de líquido

5 elevadas y tratamientos con citratos para aumentar la solubilidad del oxalato en orina. Únicamente en determinados casos de PH-1, la administración de piridoxina restaura la actividad AGT redirigiéndola a su localización correcta en peroxisomas [(1) Monico, C. G.; Rossetti, S.; Olson, J. B.; Milliner, D. S. Pyridoxine Effect in Type I Primary Hyperoxaluria Is Associated with the Most Common Mutant Allele. *Kidney Int.* **2005**, 67 (5), 1704–1709. (2) Fargue, S.; Rumsby, G.; Danpure, C. J. Multiple Mechanisms of Action of Pyridoxine in Primary Hyperoxaluria Type 1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2013**, 1832 (10), 1776–1783. (3) Salido, E.; Pey, A. L.; Rodriguez, R.; Lorenzo, V. Primary Hyperoxalurias: Disorders of Glyoxylate Detoxification. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2012**, 1822 (9), 1453–1464]. Es necesario llevar a cabo trasplante renal (paliativo) y/o hepático (curativo) para preservar la vida de los

10 pacientes de PH [(1) Zhang, X.; Roe, S.M.; Hou, Y.; Bartlam, M.; Rao, Z.; Pearl, L.H.; Danpure, C.J. *J. Mol. Biol.* **2003**, 331, 643-652. (2) Beck, B. B.; Hoyer-Kuhn, H.; Göbel, H.; Habbig, S.; Hoppe, B. Hyperoxaluria and Systemic Oxalosis: An Update on Current Therapy and Future Directions. *Expert Opinion on Investigational Drugs* **2013**, 22 (1), 117–129. (3) Watts, R. W. E.; Danpure, C. J.; Pauw, L. D.; Toussaint, C.; 1, E. S. G. on T. in H. T. Combined Liver–Kidney and Isolated Liver Transplantations for Primary Hyperoxaluria Type 1: The European Experience. *Nephrol. Dial. Transplant.* **1991**, 6 (7), 502–511.]

15 20

25 Es por tanto evidente la necesidad de desarrollo de nuevas terapias que disminuyan de forma efectiva los niveles de oxalato, que sean aplicables de forma general en todos los casos de hiperoxalurias primarias y que no impliquen los riesgos de los tratamientos quirúrgicos antes mencionados.

30 Actualmente se emplea una aproximación al tratamiento consistente en la recuperación de la actividad AGT. En este respecto, uno de los enfoques que actualmente se están desarrollando es el de terapia génica utilizando agentes de transfección capaces de incorporar AGT en hepatocitos carentes de esta. Recientemente, utilizando vectores AAV, se ha conseguido con éxito la corrección

35 a largo plazo de la PH-1 en ratones modelo de esta enfermedad. [(1) Castello, R.;

Borzzone, R.; D'Aria, S.; Annunziata, P.; Piccolo, P.; Brunetti-Pierri, N. Helper-Dependent Adenoviral Vectors for Liver-Directed Gene Therapy of Primary Hyperoxaluria Type 1. *Gene Ther* **2016**, *23* (2), 129–134. (2) Salido, E.; Rodríguez-Pena, M.; Santana, A.; Beattie, S. G.; Petry, H.; Torres, A. Phenotypic Correction of a Mouse Model for Primary Hyperoxaluria With Adeno-Associated Virus Gene Transfer. *Mol Ther* **2011**, *19* (5), 870–875. (3) Salido, E. C.; Li, X. M.; Lu, Y.; Wang, X.; Santana, A.; Roy-Chowdhury, N.; Torres, A.; Shapiro, L. J.; Roy-Chowdhury, J. Alanine-Glyoxylate Aminotransferase-Deficient Mice, a Model for Primary Hyperoxaluria That Responds to Adenoviral Gene Transfer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2006**, *103* (48), 18249–18254]. Por otro lado, el uso de chaperonas farmacológicas es otra alternativa prometedora en cuanto a restauración de la actividad AGT. Las chaperonas farmacológicas son pequeños ligandos capaces de promover el plegamiento correcto de enzimas mutadas. Su uso en enfermedades derivadas de errores congénitos del metabolismo está en auge y existen algunos ejemplos ya en el mercado [Muntau, A. C.; Leandro, J.; Staudigl, M.; Mayer, F.; Gersting, S. W. Innovative Strategies to Treat Protein Misfolding in Inborn Errors of Metabolism: Pharmacological Chaperones and Proteostasis Regulators. *J Inherit Metab Dis* **2014**, *37* (4), 505–523]. Recientemente, un estudio en el que se ha identificado una molécula capaz de actuar como chaperona farmacológica para AGT, ha demostrado la viabilidad de esta técnica como posible tratamiento para PH-1 [Oppici, E.; Montioli, R.; Dindo, M.; Maccari, L.; Porcari, V.; Lorenzetto, A.; Chellini, S.; Voltattorni, C. B.; Cellini, B. The Chaperoning Activity of Amino-Oxyacetic Acid on Folding-Defective Variants of Human Alanine:Glyoxylate Aminotransferase Causing Primary Hyperoxaluria Type I. *ACS Chem. Biol.* **2015**, *10* (10), 2227–2236].

Una aproximación distinta en cuanto a búsqueda de tratamiento farmacológico para PH-1 es la estrategia de la terapia mediante reducción de sustrato (SRT). Esta aproximación es aplicable en patologías provocadas por pérdida de una función enzimática [Smid, B. E.; Aerts, J. M. F. G.; Boot, R. G.; Linthorst, G. E.; Hollak, C. E. M. Pharmacological Small Molecules for the Treatment of Lysosomal Storage Disorders. *Expert Opin Investig Drugs* **2010**, *19* (11), 1367–1379] como es el caso de la PH-1. En estos casos tiene lugar una acumulación nociva de los sustratos enzimáticos. Mediante SRT lo que se pretende es reducir el nivel de sustrato

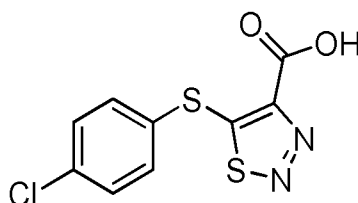
acumulado hasta una concentración tal que pueda ser metabolizada incluso por una actividad enzimática residual.

5 De acuerdo con esta idea, en la actualidad se están explorando dos enzimas como dianas que se han demostrado seguras para SRT en PH-1. Por un lado, la enzima glicolato oxidasa (GO) que cataliza la oxidación de glicolato a glioxilato (también participa en la oxidación de éste último a oxalato) [Martin-Higueras, C.; Luis-Lima, S.; Salido, E. Glycolate Oxidase Is a Safe and Efficient Target for Substrate Reduction Therapy in a Mouse Model of Primary Hyperoxaluria Type I. *Mol Ther* 10 **2016**, 24(4), 719-725], y por otro la enzima prolina deshidrogenasa (PRODH2 o HYPDH) que cataliza de forma exclusiva la primera etapa en la conversión de *trans*-4-hidroxi-L-prolina en glioxilato [Summitt, C. B.; Johnson, L. C.; Jönsson, T. J.; Parsonage, D.; Holmes, R. P.; Lowther, W. T. Proline Dehydrogenase 2 (PRODH2) Is a Hydroxyproline Dehydrogenase (HYPDH) and Molecular Target for 15 Treating Primary Hyperoxaluria. *Biochemical Journal* **2015**, 466 (2), 273–281]. Para ambas enzimas, se ha documentado la existencia de individuos sanos carentes de ellas [Frishberg, Y.; Zeharia, A.; Lyakhovetsky, R.; Bargal, R.; Belostotsky, R. *J. Med. Genet.* **2014**, 51(8), 526–529]. Además, para la enzima GO se han generado ratones knock-out (KO) que igualmente se han desarrollado sin evidencia de 20 efectos fenotípicos nocivos.

La inhibición de PRODH2 se postula efectiva para el tratamiento de los tres tipos de hiperoxaluria primaria (PH-1, PH-2 y PH-3) mientras que la inhibición GO resultaría especialmente útil en el caso de PH-1.

25 Aunque se han encontrado algunas moléculas pequeñas inhibitoras de PRODH2, no se ha comprobado aún su efectividad en la disminución de oxalato, y por tanto en la mejora del fenotipo PH, en cultivos celulares o *in vivo*. Por el contrario, recientemente se ha comprobado la efectividad de un inhibidor de GO (CCPST) para disminuir los niveles de oxalato en ratones con PH-1 (Agxt1-KO). Con este estudio se demuestra el potencial de la inhibición farmacológica de GO en el 30 desarrollo de un tratamiento para PH-1 en humanos y establece un cabeza de serie para la preparación de nuevos inhibidores. En bibliografía puede encontrarse diversos ejemplos de inhibidores de GO, los cuales han podido ser co-cristalizados con GO de espinaca (sGO) [Stenberg, K.; Lindqvist, Y. Three-Dimensional Structures of Glycolate Oxidase with Bound Active-Site Inhibitors. *Protein Science*

1997, 6 (5), 1009–1015] y humana (hGO) [Murray, M.S.; Holmes, R.P.; Lowther, W.T. *Biochem.* **2008**, 47, 2439-2449].



CCPTS

5

Dentro de la estrategia SRT y de forma alternativa a la inhibición enzimática utilizando pequeñas moléculas, se están dedicando esfuerzos al desarrollo de siRNA para GO y PRODH2 [(1) Dutta Chaitali; Salido Eduardo. Inhibition of Glycolate Oxidase with Dicer-Substrate siRNA Reduces Calcium Oxalate Deposition in a Mouse Model of Primary Hyperoxaluria Type II inhibition of Glycolate Oxidase with Dicer-Substrate siRNA Reduces Calcium Oxalate Deposition in a Mouse Model of Primary Hyperoxaluria Type I. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy Journal* **2016** (DOI: 10.1038/mt.2016.4). (2) Li, X.; Knight, J.; Fargue, S.; Buchalski, B.; Guan, Z.; Inscho, E. W.; Liebow, A.; Fitzgerald, K.; Querbes, W.; Todd Lowther, W.; et al. Metabolism of ¹³C₅-Hydroxyproline in Mouse Models of Primary Hyperoxaluria and Its Inhibition by RNAi Therapeutics Targeting Liver Glycolate Oxidase and Hydroxyproline Dehydrogenase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **2016**, 1862 (2), 233–239. (3) Querbes, W.; Fitzgerald, K.; Bettencourt, B.; Liebow, A.; Erbe, D. Compositions and Methods for Inhibition of Hao1 (hydroxyacid Oxidase 1 (glycolate Oxidase)) Gene Expression. WO2016057893 (A1), April 14, **2016**]. Estudios en ratones Agxt1-KO a los que se ha inyectado siRNA dirigido a silenciar la expresión de cada una de estas enzimas han evidenciado una disminución del oxalato excretado en orina, apuntando de nuevo a un posible tratamiento para PH-1.

Derivados de ácido salicílico

El ácido salicílico es un producto natural de origen vegetal que tiene múltiples dianas conocidas no solo en plantas sino también en animales, incluyendo humanos. Los derivados del ácido salicílico se han utilizado para tratar el dolor, los procesos inflamatorios y la fiebre. Además existen estudios que describen el efecto del ácido salicílico y sus derivados en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, hepatitis C, cáncer y alteraciones dérmicas, entre otras [Klessig, DF, Tian, M and Choi, HW (2016). Multiple Targets of Salicylic Acid and Its Derivatives in Plants and Animals. *Front Immunol* 7: 206].

No se han encontrado referencias que relacionen el ácido salicílico ni sus derivados con la capacidad de disminuir el oxalato en células carentes de AGT, ni tampoco referencias al uso de este tipo de compuestos, en el tratamiento de enfermedades debidas a la acumulación de oxalato ni, en particular, en el tratamiento de hiperoxaluria.

No se conocen referencias que relacionen el ácido salicílico ni sus derivados con una capacidad inhibitoria de GO o PRODH2.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención trata sobre el uso de compuestos derivados del ácido salicílico como agentes reductores de la excreción de oxalato y/o inhibidores de la actividad de las enzimas GO y PRODH2, y por tanto de su aplicación para el tratamiento de enfermedades cursadas por la acción de GO y/o PRODH2 y/o relacionadas con el exceso de oxalato. Entre estas enfermedades se encuentran, entre otras, las hiperoxalurias primarias (PH-1, PH-2 y PH-3), la hiperoxaluria secundaria o la litiasis renal idiopática por oxalato cálcico.

Adicionalmente, la invención está relacionada con el uso de derivados de ácido salicílico para el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal (uremia o hiperazoemia) que reciben hemodiálisis o diálisis peritoneal, en particular pacientes tratados con ácido ascórbico (vitamina C), que se metaboliza a oxalato o de pacientes con fibromialgia y dolor vulvar.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso de derivados del ácido salicílico; o de

composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de esos derivados, como medicamento, o para la fabricación de un medicamento, para el tratamiento de dichas enfermedades.

5 En otro aspecto, la invención se refiere a preparaciones combinadas que comprenden derivados del ácido salicílico; o de composiciones farmacéuticas que los comprenden, junto con otros compuestos o fármacos empleados para el tratamiento de las enfermedades previamente mencionadas.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit para la preparación de las composiciones o de las preparaciones combinadas mencionadas.

10 En un último aspecto, la invención también se refiere a un método de tratamiento de dichas enfermedades que emplea los mencionados compuestos, composiciones, preparaciones combinadas o kits.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

15

Definiciones

Se entenderá que un sujeto o paciente "posee un exceso de oxalato" cuando la cantidad de este compuesto (sales o ésteres del ácido oxálico) en el organismo del individuo, en particular en sangre u orina, supera los valores normales ya sea por producción excesiva o acumulación.

20

El término "tratamiento" o "tratar" en el contexto de este documento se refiere a la administración de un compuesto o una composición según la invención para mejorar o eliminar una enfermedad, condición patológica o uno o más síntomas asociados con dicha enfermedad o condición en un mamífero, preferentemente en humanos. "Tratamiento" también abarca la mejora o eliminación de las secuelas fisiológicas de la enfermedad. Concretamente, el concepto "tratar" se puede interpretar como:

25

i. Inhibir la enfermedad o condición patológica, es decir, detener su desarrollo;

30

ii. Aliviar la enfermedad o la condición patológica, es decir, causa la regresión de la enfermedad o la condición patológica;

iii. Estabilizar la enfermedad o la condición patológica.

5 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones el término "comprende", que también podrá interpretarse como "consiste en", y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención.

10 En este contexto, la presente invención trata sobre el uso de derivados de ácido salicílico como inhibidores de la actividad de las enzimas GO y/o PRODH2 y como agentes reductores de la excreción de oxalato, en particular de oxalato cálcico. Esta actividad los hace útiles para su aplicación para el tratamiento de enfermedades mediadas por la actividad enzimas GO y/o PRODH2, en particular enfermedades relacionadas con exceso de oxalato como hiperoxalurias primarias
15 (PH-1, PH-2 o PH-3), hiperoxaluria secundaria o litiasis renal idiopática por oxalato cálcico, entre otras.

La invención también se refiere al uso de derivados de ácido salicílico para el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal (uremia o hiperazoemia) que
20 reciben hemodiálisis o diálisis peritoneal, en particular pacientes tratados con ácido ascórbico (vitamina C), que se metaboliza a oxalato o de pacientes con fibromialgia y dolor vulvar.

A lo largo de la invención se entenderán incluidos dentro del término "*derivados de ácido salicílico*" sus sales (salicilatos) y por extensión, los profármacos de
25 derivados de ácido salicílico.

Así, un primer aspecto de la presente invención se refiere al uso de derivados del ácido salicílico, para el tratamiento de enfermedades o patologías relacionadas la
30 actividad de las enzimas GO y/o PRODH2, en particular en enfermedades relacionadas con un exceso de oxalato, y para el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal (uremia o hiperazoemia) que reciben hemodiálisis o diálisis peritoneal, en particular pacientes tratados con ácido ascórbico (vitamina C), que se metaboliza a oxalato o de pacientes con fibromialgia y dolor vulvar.

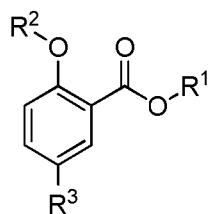
35

En particular, la invención se refiere al uso de compuestos derivados del ácido salicílico, como medicamento o para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de dichas enfermedades o patologías.

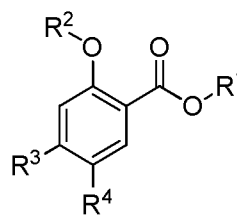
5 En una realización más particular, la enfermedad o patología mediada con exceso de oxalato se selecciona del grupo formado por hiperoxaluria primaria (PH-1, PH-2 o PH-3), hiperoxaluria secundaria y litiasis renal idiopática por oxalato cálcico. En una realización preferente, la enfermedad o patología es hiperoxaluria primaria, más preferentemente PH-1.

10

En una realización preferente los derivados del ácido salicílico empleados son compuestos estructuras generales I y II, en adelante también referenciados como "compuestos I" y "compuestos II", respectivamente.



I



II

15

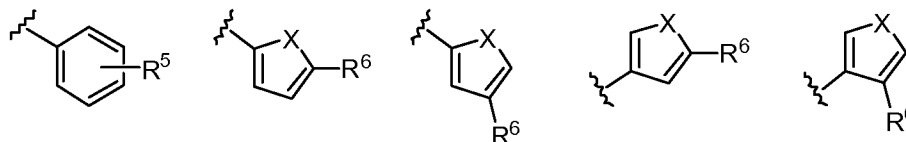
Donde:

$R^1 = -H, -CH_3$ y $-CH_2CH_3$.

$R^2 = -H, -CH_3$.

$R^3 =$ Ciclo aromático (anillo de benceno sustituido) o heteroaromático (heterociclo aromático de 5 miembros con oxígeno, azufre o nitrógeno),

20



25

y

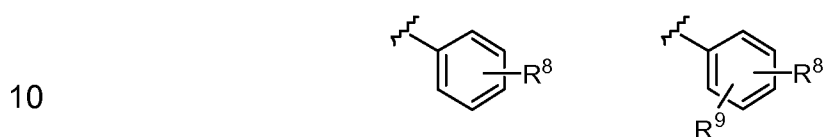
$R^4 = -H, -NO_2, -F$.

Donde, a su vez:

$R^5 =$ Halógeno, $-NO_2$, $-O-R^7$, $-O-CH_2-R^7$, $-CH_2-O-R^7$, $-CH_2-O-CH_2-R^7$.

5
 $R^6 = -H, -COCH_3, -COR^7, -COOCH_3, -COOR^7, -CH_2OR^7, CH_2OCH_3, CH(OH)CH_3, -CH(OH)R^7, -CH(OH)CH_2R^7; -CH_3, -CHO, - , -CH_2NHPh, -CH_2-NH-C_6H_5(4-Br), -CH_2-NH-C_6H_5[4-Bz(4-NHCOCH_2CH_2CH_2CCH)], -CH_2-NH-C_6H_5(4-NO_2), -CH_2-$
 (piperidino), $-CH_2-NH-CH_2-(3\text{-piridilo}), -CH_2NHCH_2Ph, -CH_2NHCH_2CCH,$

$R^7 = H$ o bien un anillo aromático sustituido con estructura



Donde, a su vez:

$R_8 = -H, -CF_3, \text{halógeno}, -OCH_3.$

$R_9 = -H, \text{halógeno}.$

15

y

$X = O, S, N-CH_3.$

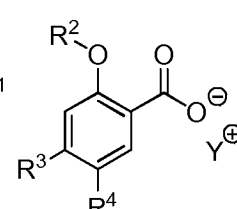
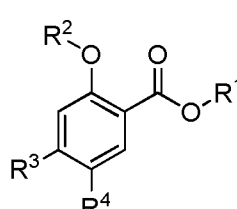
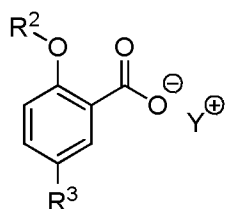
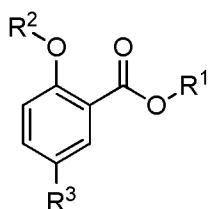
20 Las estructuras I y II cumplen bien con los requisitos estructurales que se han establecido para los inhibidores GO y, de hecho-presentan capacidad inhibidora de dicha enzima. Los inhibidores de GO descritos son moléculas con una cabeza polar (α -hidroxiácido, α -cetoácido, oxamato, sulfonato o heterocíclica) a la que se unen grupos hidrofóbicos alifáticos o aromáticos. En bibliografía se refiere que la cabeza polar debe portar un átomo protonado en posición β respecto a un carboxilato. Según se ha descrito, la hidrofobicidad de los restos unidos a la cabeza polar juega un papel fundamental en la actividad inhibidora, que incrementa proporcionalmente con el carácter hidrofóbico de las cadenas laterales.

25 En los compuestos de la invención, el fragmento de ácido salicílico constituiría la cabeza polar de β -hidroxiácido mientras que la cola hidrofóbica estaría representada por un resto apolar que puede ser un grupo arilo, heteroarilo, un grupo amino o un halógeno.

30

En una realización más particular, los derivados del ácido salicílico empleados se seleccionan de entre los subgrupos de compuestos con estructuras generales A,

B o **C** (grupos seleccionados de entre los compuestos **I**), o bien **D**, **E**, o **F** (grupos seleccionados de entre los compuestos **II**), siendo:



Donde:

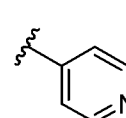
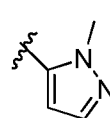
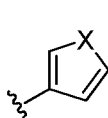
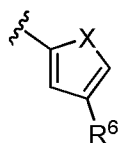
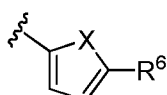
Y = NH₄

R¹ = -H y -CH₃.

R² = -H, - CH₃.

R⁴ = -H, -NO₂, -F

R³ = Heterociclo aromático con oxígeno, azufre o nitrógeno, según las estructuras:



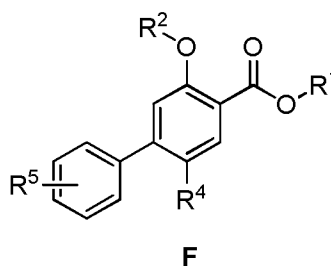
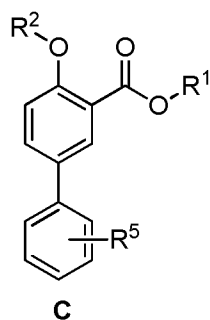
Donde a su vez,

X = O, S;

y

20 R₆ = -CH₃, -CHO, -COCH₃ -CH₂OH, -CH₂NHPh, -CH₂-NH-C₆H₅(4-Br), -CH₂-NH-C₆H₅[4-Bz(4-NHCOCH₂CH₂CH₂CCH)], -CH₂-NH-C₆H₅(4-NO₂), -CH₂-(piperidino), -CH₂-NH-CH₂-(3-piridilo), -CH₂NHCH₂Ph, -CH₂NHCH₂CCH,

25 Y



Donde:

R1 = -H, -CH3

5 R2 = -H, -CH3

R4 = -H, -NO2, F

y

R5 = -NO2, -OH, -OCH3, -O-CH2-Ph(4-OCH3), -CH2-O-Ph(3-CF3),
-OCH2Ph, -CH2-O-Ph(3,5-F,F), 2-furilo, F, Cl, Br, I.

10

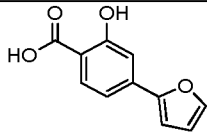
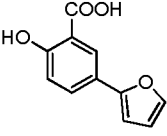
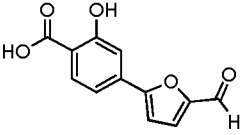
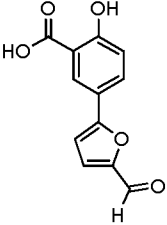
De forma más particular, los derivados de ácido salicílico empleados se selecciona de entre los compuestos detallados en la tabla 1:

Subgrupo	Compuesto	R1	R2	R3	R4	R5
A	74	H	H	2-furilo	-	-
A	78	H	H	5-formil-2-furilo	-	-
A	76	H	H	3-furilo	-	-
A	82	H	H	5-hidroximetil-2-furilo	-	-
A	86	H	H	2-tienilo		-
A	88	H	H	3-tienilo		-
A	90	H	H	5-formil-2-tienilo		-
A	MDM G-919	H	H	5-(piperidinmetil)-2-furilo		-
A	MDM G-927	H	H	5-(3-piridilmetil)-2-furilo		-
B	MDM G-907	NH4	H	5-[(4-bromofenil)aminometil]-2-furilo		-
B	MDM G-911	NH4	H	5-{4-[4-(5-hexinamido)benzoil]fenil}aminometil-2-furilo		-

B	MDM G-915	N H 4	H	5-[(4-nitrofenil)aminometil]-2-furilo		-
B	MDM G-931P	N H 4	H	5-(bencilaminometil)-2-furilo		-
B	MDM G-935P	N H 4	H	5-(propin-1-ilaminometil)-2-furilo		-
C	92	H	H	-	H	<i>p</i> -(4-metoxifenilmetoxi)
C	94	H	H	-	H	<i>o</i> -[3-(trifluorometil)feniloximetilo]
C	96	H	H	-	H	<i>p</i> -(benciloxi)
C	98	H	H	-	H	<i>o</i> -(3,5-difluorofeniloximetilo)
C	MDM G-943	H	H	-	H	<i>p</i> -(2-furilo)
D	73	H	H	2-furilo	H	-
D	77	H	H	5-formil-2-furilo	H	-
D	75	H	H	3-furilo	H	-
D	79	C H 3	C H 3	5-formil-2-furilo	H	-
D	80	H	C H 3	5-formil-2-furilo	H	-
D	81	H	H	5-hidroximetil-2-furilo	H	-
D	83	H	H	5-fenilaminometil-2-furilo	H	-
D	84	H	H	2-furilo	N O 2	-
D	85	H	H	2-tienilo	H	-
D	87	H	H	3-tienilo	H	-
D	89	H	H	5-formil-2-tienilo	H	-
D	302	H	H	5-acetil-2-tienilo	H	-
D	306	H	H	5-metil-2-tienilo	H	-
D	309	H	H	1-metil-1H-pirazol-5-ilo	H	-
D	310	H	H	4-piridilo	H	-
F	91	H	H	-	H	<i>p</i> -(4-metoxifenilmetoxi)

F	93	H	H	-	H	<i>o</i> -[3-(trifluorometil)feniloximetilo]
F	95	H	H	-	H	<i>p</i> -(benciloxi)
F	97	H	H	-	H	<i>o</i> -(3,5-difluorofeniloximetilo)
F	99	H	H	-	H	<i>p</i> -OH
F	100	H	H	-	H	<i>m</i> -(OCH3)
F	101	H	H	-	H	<i>p</i> -(NO2)

En una realización preferente, los derivados del ácido salicílico se seleccionan del grupo formado por los compuestos de fórmula general **73**, **77**, **74** y **78** (tabla 2).

Compuesto	Estructura	Compuesto	Estructura
73		74	
77		78	

5

Tabla 2: Derivados de ácido salicílico de uso preferente.

Composiciones farmacéuticas

- 10 En un segundo aspecto, la invención proporciona formulaciones, formas o composiciones farmacéuticas, en adelante "composiciones de la invención" que comprenden como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un derivado de ácido salicílico. Dichas formulaciones puede contener cualquier otro ingrediente activo en el tratamiento de pacientes con las
- 15 enfermedades mencionadas o bien caracterizarse por contener como principio activo únicamente un derivado de ácido salicílico o una combinación de derivados de ácido salicílico.

En distintas realizaciones preferentes, el derivado de ácido salicílico es un compuesto con estructura general I o II, más preferentemente con estructura general **A, B, C, D, E o F**, aún más preferentemente uno de los compuestos detallados en la tabla 1 y aún más preferente, uno de los compuestos detallados en la tabla 2.

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a aquella cantidad de un compuesto que cuando se administra a un mamífero, preferentemente humanos, es suficiente para producir el tratamiento de enfermedades mediadas por la actividad enzimas GO y/o PRODH2, en particular enfermedades relacionadas con exceso de oxalato como PH-1, hiperoxaluria secundaria, litiasis renal idiopática por oxalato cálcico, entre otras o para el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal (uremia o hiperazoemia) que reciben hemodiálisis o diálisis peritoneal, en particular pacientes tratados con ácido ascórbico (vitamina C), que se metaboliza a oxalato o de pacientes con fibromialgia y dolor vulvar.

La cantidad de un compuesto que constituye una cantidad terapéuticamente efectiva variará, por ejemplo, según la actividad del compuesto específico empleado; la estabilidad metabólica y duración de la acción del compuesto; la especie (preferentemente humana), la forma clínica de la enfermedad humana, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo y la dieta del paciente; la vía de administración, dada la posibilidad de administración oral o sistémica; el modo y el tiempo de administración; la velocidad de excreción, la combinación de fármacos; la gravedad del trastorno o la condición patológica particulares; y el sujeto que se somete a terapia, pero puede ser determinada por un especialista en la técnica según su propio conocimiento y esa descripción.

Por otro lado, de acuerdo con la presente invención, la "forma farmacéutica" es la disposición individualizada a la que se adaptan los fármacos (principios activos) y excipientes (materia farmacológicamente inactiva) para constituir un medicamento.

Así, dichas composiciones farmacéuticas comprenden uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

5 Los “vehículos farmacéuticamente aceptables” que pueden ser utilizados en las formulaciones de la invención son los vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

10 Opcionalmente la composición farmacéutica puede comprender otro principio activo. Además del requerimiento de la eficacia terapéutica, que puede necesitar el uso de agentes terapéuticos, además de los compuestos de la invención, pueden existir razones fundamentales adicionales que obligan o recomiendan en gran medida el uso de una combinación de un compuesto de la invención y otro agente terapéutico, tal y como en el tratamiento de enfermedades o afecciones que directa o indirectamente modulan la función de la sustancia.

15 Las formulaciones pueden contener además excipientes.

20 Los excipientes y los vehículos empleados tienen que ser farmacéutica y farmacológicamente tolerables, de modo que puedan ser combinados con otros componentes de la formulación o preparación y no ejerzan efectos adversos en el organismo tratado. Las composiciones farmacéuticas o formulaciones incluyen aquellas que son adecuadas para la administración oral o parenteral (incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular e intravenosa), aunque la mejor vía de administración depende del estado del paciente. Las formulaciones pueden ser en forma de dosis sencillas. Las formulaciones se preparan de acuerdo con métodos conocidos en el campo de la farmacología. Las cantidades de sustancias activas para administrarse pueden variar en función de las particularidades de la terapia.

30 Las composiciones de la invención se preparan utilizando métodos habituales tales como aquéllos descritos o a los que se hace referencia en las Farmacopeas Española y Estadounidense y textos de referencia similares.

Preparaciones combinadas

Así, en otro aspecto, la invención se refiere a una composición, preparación o forma farmacéutica, de ahora en adelante "preparación combinada de la invención", para el tratamiento de enfermedades mediadas por la actividad enzimas GO y/o PRODH2, en particular enfermedades relacionadas con exceso de oxalato como PH-1, hiperoxaluria secundaria, litiasis renal idiopática por oxalato cálcico, entre otras; o para el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal (uremia o hiperazoemia) que reciben hemodiálisis o diálisis peritoneal, en particular pacientes tratados con ácido ascórbico (vitamina C), que se metaboliza a oxalato o de pacientes con fibromialgia y dolor vulvar, que comprende:

- 10 a) un derivado de ácido salicílico,
- b) otro principio activo, incluyendo otro derivado de ácido salicílico distinto al anterior.

En una realización particular la enfermedad se selecciona del grupo formado por hiperoxalurias primarias (PH-1, PH-2 y PH-3), hiperoxaluria secundaria, litiasis renal idiopática por oxalato cálcico. En una realización preferente, la enfermedad es una hiperoxaluria primaria, más preferentemente PH-1.

En distintas realizaciones preferentes, el derivado de ácido salicílico es un compuesto con estructura general I o II, más preferentemente con estructura general **A, B, C, D, E** o **F**, aún más preferentemente uno de los compuestos detallados en la tabla 1 y aún más preferente, uno de los compuestos detallados en la tabla 2.

25 **Kit de la invención**

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit ("kit-de-partes", del inglés "kit of parts") para la preparación de la composición o de la preparación combinada de la invención.

El término "kit", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una combinación de un conjunto de componentes adecuados para la obtención de la composición o de la preparación combinada de la invención, que pueden estar o no empaquetados juntos, junto con sus contenedores y envases apropiados para su venta comercial, etc.

En la presente invención, se entiende como "componente adecuado para la obtención de la composición o de la preparación combinada de la invención", a cualquier compuesto que puede usarse para la obtención de las mismas, e incluye, sin limitación, soluciones acuosas, preparados sólidos, tampones, jarabes, soluciones de preservación, aromatizantes, correctores de pH, espesantes, etc.

Los componentes del kit se pueden proporcionar en viales separados (en forma de "kit- de-partes") o en un único vial. Además, se entiende que el kit de la presente invención está destinado a la preparación de la composición o de la preparación combinada o de la forma farmacéutica (por ejemplo, de la solución oral, colutorio, enjuague, gargarismo, elixir, etc.) de la invención. Preferiblemente, los componentes del kit de la presente invención están listos para ser usados para preparar la composición o la preparación combinada o la forma farmacéutica de la presente invención. Además, el kit contiene preferiblemente instrucciones explicativas acerca de cómo preparar la composición o la preparación combinada o la forma farmacéutica de la presente invención. Las instrucciones se pueden proporcionar a los usuarios en forma electrónica o en papel.

Por lo tanto, la invención proporciona un kit para la preparación de la composición de la invención o de la preparación combinada de la invención un recipiente que comprende un envase con el compuesto de la invención en cualquier formulación farmacéuticamente aceptable, junto con componentes adecuados para la obtención de la composición o de la preparación combinada de la invención.

25

Método de tratamiento de la invención

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para el tratamiento, en adelante "método de tratamiento de la invención", de pacientes afectados por enfermedades mediadas por la actividad enzimas GO y/o PRODH2, en particular enfermedades relacionadas con exceso de oxalato como PH-1, hiperoxaluria secundaria, litiasis renal idiopática por oxalato cálcico, entre otras; o para el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal (uremia o hiperazoemia) que reciben hemodiálisis o diálisis peritoneal, en particular pacientes tratados con ácido

35

ascórbico (vitamina C), que se metaboliza a oxalato o de pacientes con fibromialgia y dolor vulvar, mediante el uso de derivados de ácido salicílico y/o las composiciones y/o las preparaciones combinadas y/o el kit de la invención.

5 En una realización particular la enfermedad se selecciona del grupo formado por hiperoxalurias primarias (PH-1, PH-2 y PH-3), hiperoxaluria secundaria, litiasis renal idiopática por oxalato cálcico. En una realización preferente, la enfermedad es una hiperoxaluria primaria, más preferentemente PH-1.

10 Los efectos de este método de tratamiento incluyen, pero no se limitan, a los efectos de eliminación de la enfermedad, el incremento del tiempo de progresión de la enfermedad y al índice de supervivencia. Los efectos del tratamiento incluyen a más largo plazo el control de la enfermedad.

15 Este tratamiento consiste en la administración a los individuos afectados por estas enfermedades de cantidades terapéuticamente efectivas de al menos un derivado de ácido salicílico,, o una composición farmacéutica que los incluya.

20 La administración de los derivados de ácido salicílico, en forma pura o en una composición farmacéutica apropiada, o en combinación con otros compuestos, composiciones o medicamentos, se puede llevar a cabo por medio de los modos de administración de agentes aceptados para servir a similares utilidades.

25 En distintas realizaciones preferentes, el derivado de ácido salicílico es un compuesto con estructura general I o II, más preferentemente con estructura general **A, B, C, D, E** o **F**, aún más preferentemente uno de los compuestos detallados en la Tabla 1 y aún más preferente, uno de los compuestos detallados en la Tabla 2.

30

MODOS DE REALIZACIÓN

35 Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención. Una selección de compuestos que

se han preparado y/o evaluado biológicamente se indican en la Tabla 3. En la tabla 4 se indica además la EC50 encontrada en cuanto a disminución de la producción de oxalato en cultivos de hepatocitos de ratón Agxt1-KO.

5 **Evaluación biológica.**

Métodos de evaluación biológica

10 Desarrollo de ratones deficientes en enzima AGXT y GO: Los ratones deficientes en AGXT han sido descritos previamente. Los ratones GO-KO se obtuvieron de acuerdo al procedimiento descrito en bibliografía.

15 Aislamiento y cultivo de hepatocitos: El aislamiento de hepatocitos a partir de ratones deficientes en enzima AGT se llevó a cabo según descrito en bibliografía. Se cultivaron a continuación en placas de 6 pocillos un total de 3.0×10^5 células/pocillo en medio Williams E suplementado con suero bovino fetal (5%), L-glutamina (2 mM), penicilina (100 U/mL), estreptomycin (100 µg/mL), insulina (2.2 mUI/mL) e hidrocortisona (0.3 µg/mL). Tras 5 h se cambió el medio a Williams E completo (Biochrom, Cambridge, UK) sin suero y las células se trataron con
20 concentraciones crecientes de cada uno de los fármacos en presencia de glicolato 5 mM. Se recogieron muestras del medio de cultivo a las 24, 48 y 72 h tras el tratamiento, para la cuantificación de oxalato.

25 Ensayo de viabilidad celular y citotoxicidad: En una placa de 96 pocillos se cultivaron 1.0×10^4 células/pocillo. Éstas se trataron con las mismas concentraciones de fármacos que en el ensayo anterior. A las 24, 48 y 72 h se añadieron 20 µL del reactivo *Cell Titer 96 Aqueous One Solution* (Promega, Madison, Wisconsin) y tras incubar a 37 °C durante 2 h se obtuvieron medidas de absorbancia a 493 nm.

30 Determinación de oxalato: La determinación del oxalato excretado al medio se llevó a cabo mediante ensayo en presencia de oxalato oxidasa utilizando un kit comercial (Trinity Biotech, Co Wicklow, Ireland), siguiendo las indicaciones del fabricante. Se utilizó el software GraphPad Prism 5 para la representación gráfica
35 de los datos como media \pm SD.

La eficacia de disminución de la producción de oxalato se midió sobre cultivos primarios de hepatocitos obtenidos a partir de ratones hiperoxalúricos (Agxt1^{-/-}). Se utilizaron cultivos de menos de 5 días para evitar posibles interferencias debidas a

5 desdiferenciación celular. Para aumentar la producción de oxalato en las células a tan corto plazo y obtener niveles detectables en los ensayos enzimáticos estándar, se añadió al medio de cultivo glicolato en concentración 5 mM. En primer lugar se testó la viabilidad de los hepatocitos tratados con concentraciones crecientes de cada fármaco hasta 200 μ M en presencia de glicolato, en ensayos comparativos

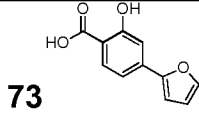
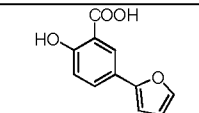
10 con hepatocitos control no tratados con fármaco y a distintos tiempos. A continuación se llevaron a cabo los ensayos de disminución de oxalato. Se tomaron muestras del medio de cultivo cada 24 horas después del tratamiento con cada uno de los compuestos en evaluación. En cada una de estas muestras se midió la concentración de oxalato excretada al medio por los hepatocitos Agxt1^{-/-}.

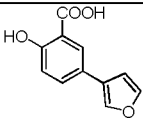
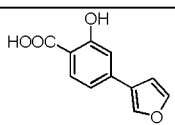
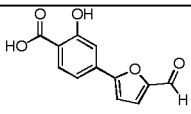
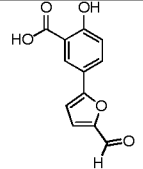
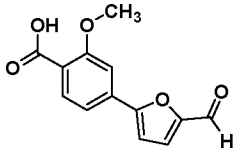
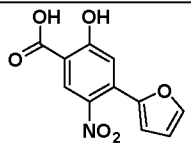
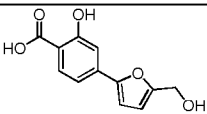
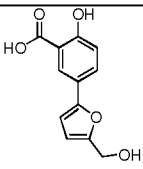
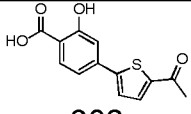
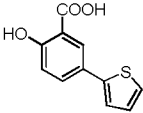
15 La determinación de oxalato en las muestras se llevó a cabo utilizando un ensayo enzimático colorimétrico basado en dos reacciones consecutivas catalizadas por las enzimas oxalato oxidasa y peroxidasa, respectivamente. La presencia de oxalato da lugar a la formación de un derivado de indamina coloreado. Las posibles interferencias debidas a interacción entre los compuestos en evaluación y las

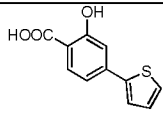
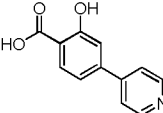
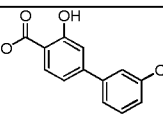
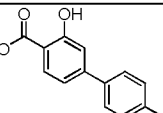
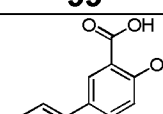
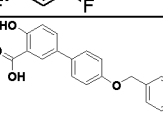
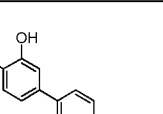
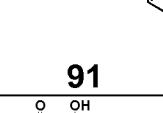
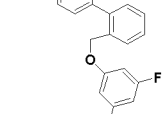
20 enzimas del kit fueron descartadas en ensayos previos sobre disoluciones estándar de oxalato.

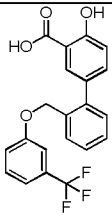
Los resultados de estos ensayos pueden observarse en las tabla 3 y 4.

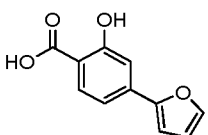
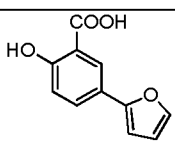
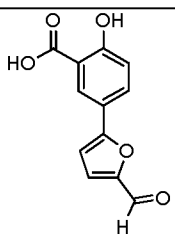
25

Compuesto	Oxalato relativo a 10 μ M
 <p>73</p>	0.87 \pm 0.15
 <p>74</p>	-0.25 \pm 0.2

 <p>76</p>	0.89 ± 0.16
 <p>75</p>	1.02 ± 0.3
 <p>77</p>	0.88 ± 0.18
 <p>78</p>	-0.06 ± 0.29^a
 <p>80</p>	0.82 ± 0.04
 <p>84</p>	0.86 ± 0.04
 <p>81</p>	0.88 ± 0.01
 <p>82</p>	0.88 ± 0.19
 <p>302</p>	0.89 ± 0.14
 <p>86</p>	0.82 ± 0.01

 <p>85</p>	0.74 ± 0.16
 <p>310</p>	0.88 ± 0.03
 <p>100</p>	0.83 ± 0.03
 <p>99</p>	0.82 ± 0.01
 <p>98</p>	0.88 ± 0.08
 <p>96</p>	0.8 ± 0.16
 <p>91</p>	0.90 ± 0.16
 <p>97</p>	0.72 ± 0.16
 <p>93</p>	0.62 ± 0.29

 <p>94</p>	0.68 ± 0.21
----------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------

Compuesto	Estructura EC ₅₀ (μM)	Compuesto	Estructura EC ₅₀ (μM)
73	 <p>EC₅₀ (24 h) = 9.35 ± 1.34 EC₅₀ (48 h) = 92.19 ± 1.23</p>	74	 <p>EC₅₀ (24 h) = 3.59 ± 1.06 EC₅₀ (48 h) = 7.88 ± 1.04 EC₅₀ (72 h) = 9.2 ± 1.04</p>
		78	 <p>EC₅₀ (24 h) = 3.45 ± 1.17 EC₅₀ (48 h) = 8.36 ± 1.12 EC₅₀ (72 h) = 11.19 ± 1.18</p>

5 **Tabla 4.** Ejemplos representativos de los compuestos para los que se ha evaluado su actividad biológica encontrada. Compuesto de referencia: CCPST (EC₅₀(24 h) = 25.26 μM, EC₅₀(48 h) = 32.94 μM, EC₅₀ (72 h) = 33.85 μM)

10 Ejemplos de síntesis de compuestos

Generalidades: Los reactivos fueron obtenidos comercialmente y se utilizaron sin purificar. El metanol (MeOH) anhidro se obtuvo de fuentes comerciales. El diclorometano (DCM) anhidro fue obtenido mediante destilación sobre hidruro cálcico. Las reacciones facilitadas por microondas se realizaron en un Biotage

15

Initiator Microwave con un brazo de 8 posiciones. Los espectros de RMN se obtuvieron en instrumentos de 300 MHz (Varian INOVA UNITY), 400 MHz (Varian DIRECT DRIVE) o 500 MHz (Varian DIRECT DRIVE). Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

5 En los espectros, las abreviaturas corresponden a singlete (s), singlete ancho (bs), doblete (d), doblete ancho (bd), doblete (dd), triplete (tt), multiplete (m). Los espectros de masas de alta resolución se registraron en un instrumento Waters LCT Premier™ utilizando un analizador de tiempo de vuelo (TOF) con ionización por electrospray (ESI) y se midieron en modo positivo o negativo.

10 se controlaron mediante cromatografía en capa fina (TLC) sobre placas de aluminio (Merck AL de Silicagel 60 F254) o bien mediante cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas (LC-MS) en un instrumento Agilent 6110 con cuadrupolo simple, utilizando una columna Zorbax Eclipse XDB-C18 4.6 x 150 mm e ionización por electrospray. La purificación mediante cromatografía flash se llevó

15 a cabo sobre silicagel (230-400 mesh ASTM). La pureza de los productos finales se comprobó mediante HPLC acoplado a un detector diodo-array (Agilent 1200), utilizando una columna Zorbax Eclipse XDB-C18 4.6 x 150 mm. Los puntos de fusión no están corregidos.

20 *Preparación de derivados de ácido salicílico mediante acoplamiento carbono-carbono catalizado por paladio:*

a) **Compuestos 73, 87, 91, 92, 93, 95, 99, 100 y 101:**

Procedimiento general: En un vial para microondas se prepara una mezcla DMF/H₂O 1/1 en la que se disuelven trifenilfosfina (0.15 equiv), carbonato potásico (3.5 equiv) y acetato de paladio (0.05 equiv). A continuación se

25 adicionan secuencialmente el halosalicilato o ácido halosalicílico y el ácido borónico o boronato correspondientes. La mezcla se desgasifica entonces mediante burbujeo con argón durante 15 min para proceder a continuación al sellado del vial. La reacción se calienta en un instrumento de microondas para

30 síntesis orgánica a 100 °C durante 3 h manteniendo agitación durante todo este tiempo. Transcurrido este tiempo se deja enfriar la reacción y se procede al filtrado de la misma realizando lavados con metanol. El filtrado se concentra a sequedad utilizando un rotavapor y el residuo resultante se purifica mediante

35 cromatografía flash (elución con mezclas AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH). El producto obtenido en la separación cromatográfica se disuelve/suspende en

acetona y se adicionan unas gotas de HCl 10% hasta pH 1-2, observándose la aparición de un precipitado. La fase de acetona se retira y ésta se concentra en rotavapor. Posteriormente el residuo tras la evaporación en rotavapor se disuelve en agua y se transfiere a un eppendorf, en el que se centrifuga 5 min a 13000 rpm. Se desecha el sobrenadante, se vuelve a adicionar agua al eppendorf y se repite esta operación 3 veces más.

5
10 **Ácido 4-(2-furil)-2-hidroxibenzoico (73):** Se utilizaron ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 2-furilborónico (38.6 mg, 0.227 mmol), PPh₃ (7.4 mg, 0.028 mmol), K₂CO₃ (91.4 mg, 0.662 mmol), Pd(AcO)₂ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). Fase móvil para elución en cromatografía flash AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH 70:5:2.5:2.5.

Rendimiento tras purificación: 50 % (25 mg).

15 ¹H NMR (400 MHz, acetona-*d*₆) δ 11.19 (bs, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.72 (m, 1H), 7.31 (dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J* = 3.5, 1.8 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, acetona-*d*₆) δ 172.4 (CO), 163.4 (C), 153.2 (C), 144.8 (CH), 138.4 (C), 131.9 (CH), 115.4 (CH), 113.1 (CH), 112.2 (CH), 111.8 (C), 109.4 (CH).

20 HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₁₁H₇O₄ (M-H)⁻: *m/z* 203.0344. Encontrado 203.0350 (desviación 3.0 ppm).

P.f. (°C) > 220.

25 **Ácido 4-(3-tienil)-2-hidroxibenzoico (87):** Se utilizaron ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 3-tienilborónico (29.0 mg, 0.227 mmol), PPh₃ (7.4 mg, 0.028 mmol), K₂CO₃ (91.4 mg, 0.662 mmol), Pd(AcO)₂ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). En este caso, de forma previa a la purificación cromatográfica, el residuo procedente de la evaporación del filtrado se resuspendió en acetonitrilo. El precipitado se separó de la fase líquida y ésta última se descartó. Se procedió entonces a la purificación del sólido mediante cromatografía flash (elución con mezcla AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH 70:10:5:5). Se obtuvo **87** en forma de sólido marrón.

30 Rendimiento tras purificación: 87 % (36 mg).

¹H NMR (500 MHz, metanol-*d*₄) δ 7.78 (dd, *J* = 8.4, 4.0 Hz, 1H), 7.61 (dd, *J* = 2.9, 1.4 Hz, 1H), 7.37 (qd, *J* = 5.1, 2.2 Hz, 2H), 7.09-7.03 (m, 2H).

35 ¹³C NMR (126 MHz, metanol-*d*₄) δ 161.82, 141.51, 141.16, 130.82, 126.08, 125.71, 121.53, 116.41, 113.53.

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₁₁H₇O₃S (M-H)⁻: m/z 219.0116. Encontrado 219.0122 (desviación 2.7 ppm).

P.f. (°C) > 300.

5 **Ácido 4-[4'-(4''-metoxibenciloxi)fenil]-2-hidroxi benzoico (91)**: Se utilizaron ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 4-(4'-metoxibenciloxi)fenilborónico (58.6 mg, 0.227 mmol), PPh₃ (7.4 mg, 0.028 mmol), K₂CO₃ (91.4 mg, 0.662 mmol), Pd(AcO)₂ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). La purificación se llevó a cabo mediante cromatografía flash (elución en gradiente utilizando mezcla AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH desde 70:5:2.5:2.5 hasta 60:10:10:10) para obtener el compuesto **91** como un sólido.

Rendimiento tras purificación: 17 % (11.3 mg).

15 ¹H NMR (300 MHz, metanol-*d*₄) δ 7.81 – 7.71 (m, 1H), 7.50 – 7.42 (m, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.99 – 6.88 (m, 4H), 6.88 – 6.80 (m, 2H), 4.95 (s, 2H, CH₂), 3.70 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (151 MHz, metanol-*d*₄) δ 131.8, 130.3, 129.4, 117.6, 116.3, 114.9, 114.8, 70.8 (CH₂), 55.7 (CH₃).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₂₁H₁₇O₅ (M-H)⁻: m/z 349.1076. Encontrado 349.1071 (desviación 1.4 ppm).

20 P.f. (°C) = 199.8.

25 **Ácido 5-[4'-(4''-metoxibenciloxi)fenil]-2-hidroxi benzoico (92)**: Se utilizaron 5-yodosalicilato de metilo (50 mg, 0.180 mmol), 4-(4'-metoxibenciloxi)fenilborónico (45 mg, 0.216 mmol), PPh₃ (7.1 mg, 0.027 mmol), K₂CO₃ (87.1 mg, 0.63 mmol), Pd(AcO)₂ (2 mg, 0.009 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). En este caso, de forma previa a la purificación cromatográfica, el residuo procedente de la evaporación del filtrado se resuspendió en metanol. El precipitado se separó de la fase líquida y ésta última se descartó. Se procedió entonces a la purificación del sólido mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH desde 70:10:5:5 hasta 60:10:10:10). Se obtuvo **92** en forma de sólido amarillento.

Rendimiento tras purificación: 20 % (13 mg).

35 ¹H NMR (400 MHz, acetona-*d*₆) δ 8.10 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.80 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.09 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.04 (d, *J* = 8.6 Hz, Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.09 (s, 2H), 3.81 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 172.6 (CO), 159.4 (C), 135.0 (CH), 133.2 (C), 132.9 (C), 130.2 (CH), 128.6 (CH), 128.4 (CH), 126.8 (C), 118.6 (CH), 116.2 (CH), 114.7 (CH), 113.3 (C), 70.3 (CH₂), 55.6 (CH₃).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₂₁H₁₇O₅ (M-H)⁻: m/z 349.1076. Encontrado 349.1084 (desviación 2.3 ppm).

5

P.f. (°C) = 177.8.

Ácido 4-{2'-[3''-(trifluorometil)fenoximetil]fenil}-2-hidroxi benzoico (93):

Se utilizaron ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 2-[3''-(trifluorometil)fenoximetil]fenilborónico (67.2 mg, 0.227 mmol), PPh₃ (7.4 mg, 0.028 mmol), K₂CO₃ (91.4 mg, 0.662 mmol), Pd(AcO)₂ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). La purificación se llevó a cabo mediante cromatografía flash utilizando elución en gradiente con mezclas AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH desde 70:2.5:2.5:1.25 hasta 70:10:5:5. El compuesto **93** se obtuvo como un sirupo.

10

15

Rendimiento tras purificación: 79 % (58 mg).

^1H NMR (400 MHz, acetona- d_6) δ 7.91 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.51-7.45 (m, 3H), 7.39 (m, 1H), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.22-7.18 (m, 2H), 7.03-7.00 (m, 2H), 5.14 (s, 2H).

20

^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 172.3 (CO), 162.6 (C), 159.8 (C), 149.3 (C), 141.9 (C), 134.5 (C), 132.1 (c, $J_{\text{C-F}}$ = 32.0 Hz, C), 131.3 (CH), 131.2 (CH), 130.8 (CH), 130.5 (CH), 129.4 (CH), 129.2 (CH), 125.1 (c, $J_{\text{C-F}}$ = 271.6 Hz, CF₃), 121.1 (CH), 119.6 (CH), 118.5 (CH), 118.3 (c, $J_{\text{C-F}}$ = 3.9 Hz, CH), 112.4 (c, $J_{\text{C-F}}$ = 3.9 Hz, CH), 112.1 (C), 69.2 (CH₂).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₂₁H₁₄O₄F₃ (M-H)⁻: m/z 387.0844. Encontrado 387.0845 (desviación 0.3 ppm).

25

Ácido 4-[4'-(benciloxi)fenil]-2-hidroxi benzoico (95): Se utilizaron ácido 2-

hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 4-(benciloxi)fenilborónico (51.8 mg, 0.227 mmol), PPh₃ (7.4 mg, 0.028 mmol), K₂CO₃ (91.4 mg, 0.662 mmol), Pd(AcO)₂ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). En este caso, de forma previa a la purificación cromatográfica, el residuo procedente de la evaporación del filtrado se resuspendió en acetonitrilo. El precipitado se separó de la fase líquida y ésta última se descartó. Se procedió entonces a la purificación del sólido mediante cromatografía flash (elución con mezcla AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH 60:10:10:10). Se obtuvo **95** en forma de sólido

30

35

blanco.

Rendimiento tras purificación: 100 % (62 mg).

^1H NMR (400 MHz, acetona- d_6) δ 7.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.70 (m, 2H), 7.51 (m, 2H), 7.41 (m, 2H), 7.34 (m, 1H), 7.23 (dd, J = 8.28, 1.82 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.14 (m, 2H), 5.21 (s, 2H).

5 ^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 172.5 (CO), 163.3 (C), 160.4 (C), 149.0 (C), 138.2 (C), 132.7 (C), 131.8(CH), 129.3 (CH), 129.2 (CH), 128.7 (CH), 128.5 (CH), 118.3 (CH), 116.2 (CH), 115.2 (CH), 111.4 (C), 70.6 (CH₂).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₂₀H₁₅O₄: (M-H)⁻: m/z 319.0970. Encontrado 319.0964 (desviación 1.9 ppm).

10 **Ácido 4-(4-hidroxifenil)-2-hidroxi-benzoico (99)**: Se utilizaron ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 4-hidroxifenilborónico (31.3 mg, 0.227 mmol), PPh₃ (7.4 mg, 0.028 mmol), K₂CO₃ (91.4 mg, 0.662 mmol), Pd(AcO)₂ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). La purificación se llevó a cabo mediante cromatografía flash eluyendo con mezcla AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH (gradiente desde 70:5:2.5:2.5 hasta 60:10:10:10). El compuesto **99** se obtuvo en forma de sólido.

Rendimiento tras purificación: 100 % (44 mg).

^1H NMR (500 MHz, metanol- d_4) δ 7.86 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.48 (m, 2H), 7.07-7.05 (m, 2H), 6.89-6.85 (m, 2H).

20 ^{13}C NMR (126 MHz, metanol- d_4) δ 174.5 (CO), 163.0 (C), 158.9 (C), 148.6 (C), 132.3 (C), 131.9 (CH), 129.2 (CH), 118.0 (CH), 116.6 (CH), 114.9 (CH), 113.8 (C).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₁₃H₉O₄: (M-H)⁻: m/z 229.0501. Encontrado 229.0510 (desviación 3.9 ppm).

25 P.f. (°C) = 265.8.

30 **Ácido 4-(3-metoxifenil)-2-hidroxi-benzoico (100)**: Se utilizaron ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 3-metoxifenilborónico (34.5 mg, 0.227 mmol), PPh₃ (7.4 mg, 0.028 mmol), K₂CO₃ (91.4 mg, 0.662 mmol), Pd(AcO)₂ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). En este caso, de forma previa a la purificación cromatográfica, el residuo procedente de la evaporación del filtrado se resuspendió en acetonitrilo. El precipitado se separó de la fase líquida y ésta última se descartó. Se procedió entonces a la purificación del sólido mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezcla AcOEt: CH₃CN:H₂O:CH₃OH 70:5:2.5:2.5 hasta 60:10:10:10). Se

35 obtuvo **100** en forma de sólido marrón.

Rendimiento tras purificación: 86 % (25 mg).

^1H NMR (500 MHz, metanol- d_4) δ 7.92 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.33 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.19-7.16 (m, 1H), 7.13 (m, 1H), 7.09 (bs, 1H), 7.08 (m, 1H), 6.92 (dd, J = 8.3, 2.6 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H, OCH_3).

5 ^{13}C NMR (126 MHz, metanol- d_4) δ 174.7 (CO), 163.0 (C), 161.4 (C), 148.3 (C), 142.8 (C), 132.2 (CH), 130.9 (CH), 120.4 (CH), 118.5 (CH), 115.8 (CH), 115.7 (C), 114.5 (CH), 113.7 (CH), 55.7 (CH_3).

HRMS (TOF, ES^-): Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_4$: (M-H) $^-$: m/z 243.0657. Encontrado 243.0659 (desviación 0.8 ppm).

10 P.f. ($^\circ\text{C}$): 185.1.

Ácido 4-(4-nitrofenil)-2-hidroxibenzoico (101): Se utilizaron ácido 2-hidroxí-4-yodobenzoico (50 mg, 0.189 mmol), ácido 4-nitrobenzenborónico (38 mg, 0.227 mmol), PPh_3 (7.4 mg, 0.028 mmol), K_2CO_3 (91.4 mg, 0.662 mmol), $\text{Pd}(\text{AcO})_2$ (2.12 mg, 0.0095 mmol), DMF:H $_2$ O 1:1 (2 mL). En este caso, de forma previa a la purificación cromatográfica, el residuo procedente de la evaporación del filtrado se resuspendió en acetonitrilo. El precipitado se separó de la fase líquida y ésta última se descartó. Se procedió entonces a la purificación del sólido mediante cromatografía flash (elución con mezcla AcOEt: CH_3CN :H $_2$ O: CH_3OH 70:10:5:5). El compuesto **101** se obtuvo como sólido amarillento.

20

Rendimiento tras purificación: 69.5% (34 mg).

^1H NMR (500 MHz, metanol- d_4) δ 8.31 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.96 (d, J = 7.94 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.17-7.13 (m, 2H).

25 ^{13}C NMR (126 MHz, metanol- d_4) δ 175.2 (CO), 163.1 (C), 148.7 (C), 148.2 (C), 144.5 (C), 132.4 (CH), 129.1 (2CH), 124.9 (2CH), 119.5 (C), 118.1 (CH), 116.1 (CH).

HRMS (TOF, ES^-): Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{NO}_5$: (M-H) $^-$: m/z 258.0402. Encontrado 258.0411 (desviación 3.5 ppm).

P.f. ($^\circ\text{C}$) > 300

30 b) **Ácido 5-(2-furil)-2-hidroxibenzoico (74)**:

En un vial de microondas se preparó una disolución de carbonato potásico (74.63 mg, 0.540 mmol) en agua (1 mL) sobre la que se añadió 0.5 mL de DMF. A continuación se adicionaron 2-hidroxí-5-yodobenzoato de metilo (50 mg, 0.180 mmol), ácido 2-furanborónico (24.2 mg, 0.216 mmol), PPh_3 (7.1 mg, 0.027 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (2.02 mg, 0.009 mmol) y 0.5 mL de DMF. La mezcla

35

se desgasificó mediante burbujeo con argón durante 10 min y se cerró el vial. La reacción se programó en un instrumento de microondas para síntesis orgánica a 100 °C durante 3 h. Una vez finalizada la reacción, se filtró lavando con MeOH para eliminar impurezas y se concentró el filtrado en el rotavapor. Se acidificó el residuo con HCl 10% y se purificó mediante cromatografía flash (fase móvil AcOEt/CH₃CN/MeOH/H₂O 70:10:5:5). Se obtuvo el compuesto **74** como un sólido marrón.

Rendimiento tras purificación: 83 % (30 mg).

¹H NMR (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 8.18 (s, 1H), 7.65 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.48-7.41 (s, 1H), 6.85 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.55 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.43 (dd, *J* = 1.8, 3.4 Hz, 1H).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₁₁H₇O₄ (M-H)⁻: *m/z* 203.0344. Encontrado 203.0350 (desviación 3.0 ppm).

c) Compuestos **75**, **76**, **85**, **86** y **88**:

Procedimiento general: En un tubo sellado se prepara una disolución de carbonato potásico (3 equiv) en agua (2 mL/mmol de compuesto halosalicilato) sobre la que se añade un volumen igual de DMF. A continuación se adicionan el compuesto ácido halosalicílico o halosalicilato (1 equiv), el ácido borónico o boronato (1.2 equiv), trifenilfosfina (0.15 equiv) y acetato de paladio (0.05 equiv). La mezcla se desgasifica mediante burbujeo con argón durante 10 min y se cierra el tubo. Se deja reaccionar en baño de aceite a 100 °C durante 24 h. Una vez finalizada la reacción, se concentra en el rotavapor, se resuspende en acetonitrilo y se filtra. El sólido se resuspende en agua y se acidifica con HCl 5%. Se evapora el disolvente y el residuo obtenido se purifica mediante cromatografía flash.

Ácido 4-(3-furil)-2-hidroxibenzoico (75): Se utilizaron 60 mg de ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (0.227 mmol), 52.77 mg de 2-furanboronato de pinacolilo (0.272 mmol), 94.12 mg de K₂CO₃ (0.681 mmol), 8.92 mg de PPh₃ (0.034 mmol), 2.47 mg de Pd(OAc)₂ (0.011 mmol), DMF:H₂O 1:1 (2 mL). El crudo de reacción obtenido se purificó mediante cromatografía flash en columna utilizando como fase móvil DCM/MeOH (gradiente 20:1→9:1) seguida de AcOEt/CH₃CN/MeOH/H₂O (gradiente 70:5:2.5:2.5→70:2.5:1.25:1.25). Se obtuvo el compuesto **75** como un sólido marrón.

Rendimiento tras purificación: 47 % (21 mg).

Punto de fusión >300 °C

^1H NMR (400 MHz, acetona- d_6) δ 8.14 (s, 1H), 7.93 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.14 (s, 2H), 6.93 (s, 1H).

^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 166.92, 162.56, 144.67, 140.88, 139.61, 131.63, 126.02, 116.68, 113.74, 110.38, 108.92.

5 HRMS (TOF, ES^-): Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{O}_4$ (M-H) $^-$: m/z 203.0344. Encontrado 203.0347 (desviación 1.5 ppm).

Ácido 5-(3-furil)-2-hidroxibenzoico (76): Se utilizaron 60 mg de 2-hidroxi-5-yodobenzoato de metilo (0.216 mmol), 50.25 mg de 3-furanboronato de pinacolilo (0.259 mmol), 89.56 mg de K_2CO_3 (0.648 mmol), 8.39 mg de PPh_3 (0.032 mmol), 2.47 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.011 mmol), DMF:H $_2\text{O}$ 1:1 (2 mL). El
10 crudo de reacción obtenido se purificó mediante cromatografía flash en columna utilizando como fase móvil DCM/MeOH (gradiente 20:1 \rightarrow 9:1) seguida de AcOEt/CH $_3$ CN/MeOH/H $_2\text{O}$ (gradiente 70:5:2.5:2.5 \rightarrow 70:2.5:1.25:1.25). Se obtuvo el compuesto **76** como un sólido marrón.

15 Rendimiento tras purificación: 34 % (15 mg).

Punto de fusión: >300 °C

^1H NMR (500 MHz, metanol- d_4) δ 8.03 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 7.55 (dd, J = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 7.51 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 1.8
20 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, metanol- d_4) δ 161.8 (C), 144.9 (CH), 144.5 (C), 139.0 (CH), 138.6 (C), 132.4 (CH), 128.7 (CH), 127.3 (C), 124.4 (C), 118.0 (CH), 109.5 (CH).

25 HRMS (TOF, ES^-): Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{O}_4$ (M-H) $^-$: m/z 203.0344. Encontrado 203.0345 (desviación 0.5 ppm).

Ácido 2-hidroxi-4-(2-tienil)benzoico (85): Se utilizaron 70 mg de ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (0.265 mmol), 40.69 mg de ácido 2-tienilborónico (0.318 mmol), 109.89 mg de K_2CO_3 (0.795 mmol), 10.49 mg de PPh_3 (0.040 mmol), 2.91 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.013 mmol), DMF:H $_2\text{O}$ 1:1 (2 mL). La
30 purificación mediante mediante cromatografía flash se hizo utilizando como fase móvil DCM/MeOH (elución en gradiente 20:1 \rightarrow 9:1). Se obtuvo el compuesto **85** como un sólido amarillo.

Rendimiento tras purificación: 51 % (30 mg).

Punto de fusión = 225 °C

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 7.74 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.57 (dd, J = 5.1, 1.1 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 3.6, 1.2 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 5.1, 3.7 Hz, 1H), 7.05-6.99 (m, 2H).

5 ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 172.01 (CO), 162.95 (C), 143.33 (C), 138.30 (C), 131.33 (CH), 128.50 (CH), 126.72 (CH), 124.89 (CH), 117.40 (C), 114.95 (CH), 112.94 (CH).

HRMS (TOF, ES^-): Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{O}_3\text{S}$ (M-H): m/z 219.0116. Encontrado 219.0105 (desviación -5.0 ppm).

10 **Ácido 2-hidroxi-5-(2-tienil)benzoico (86)**: Se utilizaron 60 mg de 2-hidroxi-5-yodobenzoato de metilo (0.216 mmol), 33.14 mg de ácido 2-tienilborónico (0.259 mmol), 89.56 mg de K_2CO_3 (0.648 mmol), 8.40 mg de PPh_3 (0.032 mmol), 2.47 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.011 mmol), $\text{DMF:H}_2\text{O}$ 1:1 (2 mL). La purificación mediante cromatografía flash se hizo utilizando como fase móvil DCM/MeOH (elución en gradiente 20:1→9:1) seguida de $\text{AcOEt/CH}_3\text{CN/MeOH/H}_2\text{O}$ (elución en gradiente 70:5:2.5:2.5→70:2.5:1.25:1.25). Se obtuvo el compuesto **86** como un sólido amarillo.

Rendimiento tras purificación: 64 % (30 mg).

Punto de fusión > 300 °C

20 ^1H NMR (400 MHz, acetona- d_6) δ 8.19 (s, 1H), 7.79 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.37 (s, 2H), 7.07 (s, 1H), 6.99 (d, J = 8.4 Hz, 1H).

^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 172.9 (CO), 162.0 (C), 143.8 (C), 133.4 (CH), 128.9 (CH), 128.1 (CH), 126.4 (C), 124.9 (CH), 123.3 (CH), 118.5 (CH).

25 HRMS (TOF, ES^-): Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{O}_3\text{S}$ (M-H): m/z 219.0116. Encontrado 219.0100 (desviación -7.3 ppm).

30 **Ácido 2-hidroxi-5-(3-tienil)benzoico (88)**: Se utilizaron 70 mg de 2-hidroxi-5-yodobenzoato de metilo (0.252 mmol), 38.69 mg de ácido 3-tienilborónico (0.302 mmol), 104.49 mg de K_2CO_3 (0.756 mmol), 9.97 mg de PPh_3 (0.038 mmol), 2.92 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.013 mmol), $\text{DMF:H}_2\text{O}$ 1:1 (2 mL). La purificación con cromatografía flash se llevó a cabo usando como fase móvil DCM/MeOH (elución en gradiente 20:1→9:1) seguida de $\text{AcOEt/CH}_3\text{CN/MeOH/H}_2\text{O}$ (elución en gradiente 70:5:2.5:2.5→70:2.5:1.25:1.25). Se obtuvo el compuesto **88** como un sólido marrón.

35 Rendimiento tras purificación: 72 % (40 mg).

Punto de fusión = 222 °C

^1H NMR (400 MHz, acetona- d_6) δ 11.04 (s, 1H), 8.15 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.84 (dd, J = 8.6, 2.3 Hz, 1H), 7.67 – 7.61 (m, 1H), 7.51 (dd, J = 5.0, 2.9 Hz, 1H), 7.48 – 7.43 (m, 1H), 6.98 (d, J = 8.7 Hz, 1H).

5 ^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 172.4, 162.0, 141.6, 134.6, 128.3, 128.1, 127.3, 126.6, 120.3, 118.5, 113.1.

HRMS (TOF, ES^-): Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{O}_3\text{S}$ (M-H) $^-$: m/z 219.0116. Encontrado 219.0104 (desviación -5.5 ppm).

d) **4-(5-Formil-2-furil)-2-metoxibenzoato de metilo (79).**

10 Se disolvieron en un matraz 142.2 mg de K_2CO_3 (1.029 mmol) en 1 mL de H_2O y se añadieron 0.5 mL de DMF. A continuación se adicionaron 60 mg de 5-bromofuraldehído (0.343 mmol), 86.31 mg de ácido 3-metoxi-4-metoxicarbonilbencen borónico (0.411 mmol), 13.37 mg de PPh_3 (0.051 mmol), 3.82 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.017 mmol) y 0.5 ml de DMF. La mezcla se desgasificó

15 mediante burbujeo con argón durante 10 min y se hizo reaccionar durante 1 h a 80 °C. Una vez finalizada la reacción, se concentró en rotavapor y el crudo de reacción obtenido se purificó mediante cromatografía flash en columna utilizando como fase móvil AcOEt/Hexano (elución en gradiente 1:4→1:2).

Rendimiento tras purificación: 57 % (51 mg).

20 P.f.: 126°C

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.69 (s, 1H), 7.86 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.39 (dd, J = 8.1, 1.5 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.91 (s, 3H).

25 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 177.53, 166.16, 159.78, 158.01, 152.60, 133.68, 132.55, 123.35, 120.87, 117.24, 109.58, 108.47, 56.45, 52.32.

HRMS (TOF, ES^+): Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ (M+Na) $^+$: (m/z) 283.0582. Encontrado 283.0591 (desviación 3.2 ppm).

e) **Ácido 2-hidroxi-4-(5-formil-2-tienil)benzoico (89):** En un tubo sellado se preparó una disolución con 110 mg de K_2CO_3 (0.795 mmol) en 1 mL de H_2O

30 sobre la que se añadieron 0.5 mL de DMF. A continuación se adicionaron 70 mg de ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (0.265 mmol), 40.62 mg de ácido 5-formil-2-tienilborónico (0.318 mmol), 10.49 mg de PPh_3 (0.040 mmol), 2.91 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.013 mmol) y 0.5 mL de DMF. La mezcla se desgasificó mediante burbujeo con argón durante 10 min y se procedió a sellar el tubo. Se

35 dejó entonces reaccionar en baño a 100 °C durante 24 h. Una vez finalizada

la reacción, se concentró ésta en el rotavapor, el residuo se resuspendió en MeOH y el sólido resultante se lavó con metanol y acetonitrilo. El sólido final se resuspendió en agua y se acidificó con HCl 5%. Se llevó a cabo la purificación del residuo resultante de evaporación mediante cromatografía flash utilizando como fase móvil DCM/MeOH (gradiente 20:1→9:1). Se obtuvo el compuesto **89** como un sólido marrón.

Rendimiento tras la purificación: 56 % (30 mg).

Punto de fusión = 250 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.91 (s, 1H), 8.03 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.79 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.19 (dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 184.19, 171.08, 162.45, 151.77, 142.46, 139.09, 136.90, 131.14, 126.20, 117.58, 115.53, 113.69.

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₁₂H₇O₄S (M-H): *m/z* 247.0065. Encontrado 247.0060 (desviación -2.0 ppm).

f) **Compuestos 97 y 98:**

Procedimiento general: En un tubo cerrado se prepara una disolución de carbonato potásico (4 equiv) en agua que previamente se ha desgasificado mediante burbujeo con argón (15 min). Se mantiene el burbujeo con argón durante 5 min más, tras los cuales se añade dimetilformamida (DMF) (en proporción 1:1 con el agua). Sobre la mezcla se añaden el ácido halosalicílico o el halosalicilato correspondiente (1 equiv), el ácido borónico (1.2 equiv), trifenilfosfina (0.12 equiv) y acetato de paladio (0.04 equiv), en ese orden. A continuación la reacción se calienta a 100 °C (baño de aceite) durante 24 h. Tras dicho tiempo, se detiene la reacción mediante enfriamiento y se evaporan los disolventes en rotavapor. El residuo se resuspende en HCl 5 %, se filtra y el sólido resultante se lava con pequeños volúmenes de acetonitrilo. Finalmente se purifica mediante cromatografía flash.

Ácido 4-[2'-(3'',5'')-Difluorofenoximetil]fenil]-2-hidroxi benzoico (97): Se utilizaron ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (50 mg, 0.19 mmol), ácido 2-[(3',5'-difluorofenoxi)metil]fenilborónico (60 mg, 1.2 mmol), K₂CO₃ (104 mg, 0.76 mmol), Pd(AcO)₂ (2.1 mg, 0.01 mmol), PPh₃ (7.45 mg, 0.03 mmol) y DMF:H₂O 1:1 (2 mL). La purificación en columna se llevó a cabo mediante elución en gradiente (mezcla MeOH:AcOEt desde 1:10 hasta 1:9). Se obtuvo el compuesto **97** como un sólido blanco.

Rendimiento tras purificación: 65 % (44 mg).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.77 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.57 (dd, J = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.46-7.38 (m, 3H), 7.32 (dd, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.75 (tt, J = 9.4, 2.3 Hz, 1H), 6.70-6.65 (m, 2H), 4.93 (s, 2H).

5 ^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 175.2 (CO), 164.5 (dd, $J_{\text{C-F}}$ = 244.6, 16 Hz, 2C-F), 162.1 (C), 161.7 (t, $J_{\text{C-F}}$ = 13.9 Hz, C), 146.6 (C), 142.5 (C), 134.1 (C), 132.4 (CH), 130.6 (CH), 130.3 (CH), 129.2 (CH), 128.7 (CH), 120.0 (CH), 117.9 (CH), 117.3 (C), 99.6 (dd, $J_{\text{C-F}}$ = 20.5, 7.9 Hz, 2-CH), 96.8 (t, $J_{\text{C-F}}$ = 26.3 Hz, CH), 69.5 (CH₂).

^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) -109.35 (m, 2F).

10 HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₂₀H₁₃O₄F₂ (M-H): m/z 355.0782. Encontrado 355.0796 (desviación 3.9 ppm).

Ácido 5-[2'-(3'',5'')-Difluorofenoximetil]fenil]-2-hidroxibenzoico (98): Se utilizaron 2-hidroxi-4-yodobenzoato de metilo (50 mg, 0.19 mmol), ácido 2-[(3',5'-difluorofenoxi)metil]fenilborónico (57 mg, 0.21 mmol), K₂CO₃ (99 mg, 0.72 mmol), Pd(AcO)₂ (0.2 mg, 0.01 mmol), PPh₃ (7.10 mg, 0.27 mmol) y DMF:H₂O 1:1 (2 mL). La purificación en columna se llevó a cabo mediante elución en gradiente (mezcla MeOH:AcOEt desde 1:10 hasta 1:9). Se obtuvo el compuesto **98** en forma de sólido blanco.

Rendimiento tras purificación: 62 % (40 mg).

20 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7.70 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 7.0, 3.0 Hz, 1H), 7.46-7.39 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 6.75 (tt, J = 9.4, 2.3 Hz, 1H), 6.70-6.64 (m, 4H), 4.97 (s, 2H).

25 ^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 183.1 (CO), 164.5 (dd, $J_{\text{C-F}}$ = 244.5, 16 Hz, 2C-F), 162.1 (C), 161.7 (t, $J_{\text{C-F}}$ = 13.8 Hz, C), 142.4 (C), 141.4 (C), 136.9 (C), 134.3 (C), 131.8 (CH), 131.1 (CH), 129.5 (CH), 128.4 (CH), 117.8 (CH), 99.5 (dd, $J_{\text{C-F}}$ = 20.3, 8.0 Hz, 2-CH), 96.8 (t, $J_{\text{C-F}}$ = 26.3 Hz, CH), 69.8 (CH₂).

^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) -109.29 (m, 2F).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₂₀H₁₃O₄F₂ (M-H): m/z 355.0782. Encontrado 355.0796 (desviación 3.9 ppm).

30

Ácido 4-(5-formil-2-furil)-2-metoxibenzoico (80):

Se disolvieron en un matraz 22 mg de **79** (0.084 mmol) en 0.42 mL de THF y se adicionaron 0.42 mL de una solución de NaOH 1N. Se dejó reaccionar durante 2 h a 60 °C. Una vez finalizada la reacción se concentró en rotavapor para eliminar el THF. Se adicionaron 10 mL H₂O y se acidificó con HCl 10%, con lo que precipitó

35

el producto anaranjado. Se filtró lavando con H₂O y se recogió el sólido obtenido. Tras concentrar en rotavapor, el crudo obtenido se purificó mediante cromatografía flash en columna utilizando como fase móvil DCM/MeOH 20:1→9:1 y AcOEt/CH₃CN/MeOH/H₂O 70:10:5:5. Se obtuvo **80** como un sólido anaranjado.

5 Rendimiento tras purificación: 30% (6 mg).

¹H NMR (300 MHz, (CD₃)₂CO) δ 9.72 (s, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.65-7.55 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 4.11 (s, 3H).

HRMS (TOF, ES⁻): Calculado para C₁₃H₉O₅ (M-H)⁻: (m/z) 245.0450. Encontrado 245.0436 (desviación -5.7 ppm).

10

Ácido 4-(5-hidroximetil-2-furil)-2-hidroxibenzoico (81):

En un matraz de fondo redondo, se preparó una disolución del ácido 4-(5-formil-2-furil)-2-hidroxibenzoico (**77**) (33mg, 0.142 mmol) en metanol (2-3 ml) que se enfrió a 0°C utilizando un baño de hielo. A continuación se adicionó de forma lenta borohidruro sódico (10.8 mg, 0.284 mmol) y la reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente hasta la completa desaparición del producto de partida (seguimiento mediante TLC) (1 h). Se acidificó entonces la reacción hasta pH 5.0 mediante adición de HCl (5%) y se procedió al filtrado de la misma. El filtrado se concentró en rotavapor y el residuo se purificó mediante cromatografía flash (elución con mezcla AcOEt: CH₃CN: H₂O: CH₃OH en gradiente desde 70:5:2.5:2.5 hasta 60:10:10:10) para obtener el compuesto **81** como un sólido amarillento.

20

Rendimiento tras purificación: 37.5 % (12.5 mg).

¹H NMR (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 7.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.16-7.09 (m, 2H), 6.76 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.40 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 4.58 (s, CH₂, 2H).

25

HRMS (TOF, ES⁻) Calculado para C₁₂H₉O₅: (M-H)⁻: m/z 233.0450. Encontrado 233.0450 (desviación 0 ppm).

P.f. (°C) > 300.

Ácido 5-(5-hidroximetil-2-furil)-2-hidroxibenzoico (82):

En un matraz de fondo redondo, se preparó una disolución del ácido 5-(5-formil-2-furil)-2-hidroxibenzoico (**78**) (40 mg, 0.172 mmol) en metanol (2-3 ml) que se enfrió a 0°C utilizando un baño de hielo. A continuación se adicionó de forma lenta borohidruro sódico (13.0 mg, 0.344 mmol) y la reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente hasta la completa desaparición del producto de partida (seguimiento mediante TLC) (3.5 h). Se acidificó entonces la reacción hasta pH 5.0 mediante adición de HCl (5%) y se procedió al filtrado de la misma. El filtrado se

35

concentró en rotavapor el crudo se purificó mediante cromatografía flash (elución con mezcla AcOEt: CH₃CN: H₂O: CH₃OH 60:10:10:10). Se obtuvo así **82** (25.6 mg, 63.6 %) como sólido amarillento.

¹H NMR (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 8.32 – 7.90 (m, 1H), 7.73 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.54 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.20 (dd, *J* = 3.3, 0.9 Hz, 1H), 4.10 (s, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, metanol-*d*₄) δ 171.82 (CO), 160.81 (Cq), 152.02 (Cq), 150.83 (Cq), 134.34 (Cq), 130.41 (CH arom), 124.72 (CH arom), 122.70 (Cq), 117.26 (CH arom), 108.21 (CH arom), 104.37 (CH arom), 26.78 (CH₂).

HRMS (TOF, ES⁻) Calculado para C₁₂H₉O₅ (M-H): 233,0450. Encontrado 233.0442.

P.f. (°C): > 300.

Ácido 4-(5-fenilaminometil-2-furil)-2-hidroxibenzoico (83):

Se preparó una disolución de ácido 4-(5-formil-2-furil)-2-hidroxibenzoico (**77**) (30 mg, 0.129 mmol) en una mezcla anhidra de metanol:diclorometano 1:1 (4 mL). A continuación se añadieron tamiz molecular activado y anilina (17.7 μL, 0.194 mmol) y la reacción se mantuvo en agitación, protegida de la luz y a temperatura ambiente durante 1 h. La desaparición en ese tiempo del compuesto de partida se comprobó mediante TLC. El matraz de reacción se enfrió a continuación a 0 °C para la adición de triacetoxiborohidruro sódico (68.3 mg, 0.323 mmol) en una única porción. La reacción se dejó alcanzar la temperatura ambiente tras lo que se mantuvo en agitación durante 2 h. A continuación se retiró el tamiz molecular mediante filtración y se acidificó la mezcla hasta pH 5.0 con HCl (5%). El disolvente se evaporó entonces en rotavapor y el crudo se purificó mediante cromatografía flash (elución en gradiente con mezclas CH₂Cl₂: CH₃OH desde 20:1 hasta 6:1) para la obtención de **83** como un sólido.

Rendimiento tras purificación: 15 % (6.1 mg).

HRMS (TOF, ES⁻) Calculado para C₁₈H₁₄NO₄ (M-H): 308.0923. Encontrado 308.0922.

P.f. (°C) > 300.

Ácido 4-(2-furil)-2-hidroxi-5-nitrobenzoico (84):

Ácido 2-hidroxi-4-yodo-5-nitrobenzoico (**103**): Se disolvieron 30 mg de ácido 2-hidroxi-4-yodobenzoico (0.114 mmol) en 3 mL de ácido acético. En frío, se

adicionaron 8 μL de HNO_3 (60 %) (0.114 mmol) y 12 μL de H_2SO_4 (95-97 %) (0.227 mmol). Se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 48 h. Tras ese tiempo la reacción se concentró y purificó mediante cromatografía flash en columna empleando como fase móvil CH_2Cl_2 - $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (gradiente 2:1 \rightarrow 1:1), $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ y AcOEt/ACN/MeOH/ H_2O (6:2:2:2). Se obtuvo el compuesto **84** como un sólido amarillo.

Rendimiento tras purificación: 74 % (26 mg).

^1H NMR (300 MHz, acetona- d_6) δ 8.51 (s, 1H), 7.41 (s, 1H).

HRMS (TOF, ES $^-$): Calculado para $\text{C}_7\text{H}_3\text{NO}_5\text{I}$ (M-H): m/z 307.9076. Encontrado 307.9076 (desviación 6.5 ppm).

Ácido 4-(2-furil)-2-hidroxi-5-nitrobenzoico (**84**): Se disolvieron en un tubo sellado 55.15 mg de K_2CO_3 (0.399 mmol) en 1 mL de H_2O y se añadieron 0.5 mL de DMF. A continuación se adicionaron 41 mg del compuesto **103** (0.132 mmol), 17.79 mg de 2-furanboronato de pinacolilo (0.159 mmol), 4.98 mg de PPh_3 (0.019 mmol), 1.34 mg de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.006 mmol) y 0.5 mL de DMF. La mezcla se desgasificó mediante burbujeo con argón durante 10 min. y se selló el tubo. Se dejó reaccionar en baño a 100 $^\circ\text{C}$ durante 32 h. Una vez finalizada la reacción, se concentró en el rotavapor. El residuo se disolvió en H_2O y se acidificó con HCl 5%. El crudo de reacción obtenido se purificó mediante cromatografía flash en columna utilizando como fase móvil DCM/MeOH (gradiente 15:1 \rightarrow 9:1) seguida de AcOEt/ CH_3CN /MeOH/ H_2O (gradiente 70:5:2.5:2.5 \rightarrow 70:10:10:10). Se obtuvo el compuesto **84** como un sólido marrón.

Rendimiento tras purificación: 50 % (16 mg).

Punto de fusión > Descomposición a 187 $^\circ\text{C}$.

^1H NMR (400 MHz, acetona- d_6) δ 8.40 (s, 1H), 7.63 (bd, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.76 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.56 (dd, $J = 3.4, 1.8$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (101 MHz, acetona- d_6) δ 172.8 (CO), 166.4 (C), 150.4 (C), 144.8 (CH), 139.1 (C), 129.7 (C), 129.0 (CH), 119.0 (C), 117.6 (CH), 112.6 (CH), 110.7 (CH).

HRMS (TOF, ES $^-$): Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{NO}_6$ (M-H): m/z 248.0195. Encontrado 248.0206 (desviación 4.4 ppm).

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Uso de derivados de ácido salicílico para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o patologías relacionadas con un exceso de oxalato.
- 10 2.- Uso según reivindicación anterior en enfermedad o patología mediada con exceso de oxalato se selecciona del grupo formado por hiperoxaluria primaria (PH-1), hiperoxaluria secundaria, litiasis renal idiopática por oxalato cálcico.
- 3.- Uso de derivados de ácido salicílico según la reivindicación anterior, caracterizado por que la enfermedad o patología es hiperoxaluria primaria.
- 15 4.- Uso, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, de derivados de ácido salicílico con estructura general I
- 5.- Uso, según reivindicación anterior, de derivados de ácido salicílico con estructura general A, B o C.
- 20 6.- Uso, según reivindicación anterior, de derivados de ácido salicílico con fórmula general 74 o 78.
- 25 7.- Uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, de derivados de ácido salicílico con estructura general II
- 8.- Uso, según reivindicación anterior, de derivados de ácido salicílico con estructura general D, E o F.
- 30 9.- Uso, según reivindicación anterior, de derivados de ácido salicílico con fórmula general 73 o 77.
- 35



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 201730326

22 Fecha de presentación de la solicitud: 10.03.2017

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

5 Int. Cl.: **A61K31/625** (2006.01)
A61P13/04 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	Fargue Sonia et al. MULTIPLE MECHANISMS OF ACTION OF PYRIDOXINE IN PRIMARY HYPEROXALURIA TYPE 1. Biochimica et Biophysica Acta , 30/09/2013, Vol. 1832, N° 10, páginas 1776-1783, ISSN 0925-4439 (print) ISSN 0006-3002(electronic), <DOI: doi:10.1016/j.bbadis.2013.04.010>. resumen, introducción y página 1782, conclusión	1-9
A	Fargue Sonia et al. EFFECTS OF ALANINE:GLYOXYLATE AMINOTRANSFERASE VARIANTS AND PYRIDOXINE SENSITIVITY ON OXALATE METABOLISM IN A CELL-BASED CYTOTOXICITY ASSAY. Biochimica et biophysica acta. molecularbasis of disease, AMSTERDAM, NL. WaterhamH R; Wanders R J A, 06/02/2016, Vol. 1862, N° 6, páginas 1055 - 1062, ISSN 0925-4439, <DOI: doi:10.1016/j.bbadis.2016.02.004>. resumen y página 1058, apartado 3.6.	1-9
A	Lorenzo, V. et al. HIPEROXALURIA PRIMARIA. Nefrologia,2014, Vol. 34, N° 3, Páginas 398-412. Figura 1, páginas 406-409	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
18.10.2017

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
1/7



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 201730326

22 Fecha de presentación de la solicitud: 10.03.2017

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

5 Int. Cl.: **A61K31/625** (2006.01)
A61P13/04 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	Cristina Martin-Higueras et al. GLYCOLATE OXIDASE IS A SAFE AND EFFICIENT TARGET FOR SUBSTRATE REDUCTION THERAPY IN A MOUSE MODEL OF PRIMARY HYPEROXALURIA TYPE I. Molecular therapy, Academic Press,US. 01/04/2016, Vol. 24, Nº 4, páginas 719 - 725, ISSN 1525-0016, <DOI: doi:10.1038/mt.2015.224>. resumen, página 722, columna 1	1-9
A	Candice b Summitt et al. PROLINE DEHYDROGENASE 2 (PRODH2) IS A HYDROXYPROLINE DEHYDROGENASE (HYPDH) AND MOLECULAR TARGET FOR TREATING PRIMARY HYPEROXALURIA. Biochemical Journal, Portland Press Ltd, GB. 01/03/2015, Vol. 466, Nº 2, páginas 273 - 281, ISSN 0264-6021, <DOI: doi: 10.1042/BJ20141159>. resumen, página 8, ln 8-15.	1-9
A	Stenberg k a j et al. THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF GLYCOLATE OXIDASE WITH BOUND ACTIVE-SITE INHIBITOR. Protein Science, Wiley, US. 01/01/1997, Vol. 6, páginas 1009 - 1015, ISSN 0961-8368. Todo el documento.	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
18.10.2017

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
2/7



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① N.º solicitud: 201730326

② Fecha de presentación de la solicitud: 10.03.2017

③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A61K31/625** (2006.01)
A61P13/04 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	<p>Klessig Daniel F et al. MULTIPLE TARGETS OF SALICYLIC ACID AND ITS DERIVATIVES IN PLANTS AND ANIMALS. Frontiers in immunology Switzerland 2016. Vol. 7, artículo 206, páginas 1-9 <DOI: doi: 10.3389/fimmu.2016.00206, pubmed: 27303403>. todo el documento</p>	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
18.10.2017

Examinador
H. Aylagas Cancio

Página
3/7

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, EMBASE, MEDLINE, NPL, XPESP

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 18.10.2017

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-9	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-9	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Fargue Sonia et al. Biochimica et Biophysica Acta 2013. Vol. 1832, Nº 10, Páginas 1776-1783, ISSN 0925-4439(print) ISSN 0006-3002(electronic), DOI: doi:10.1016/j.bbadis.2013.04.010>	30.09.2013
D02	Fargue Sonia et al. Biochimica et biophysica acta. molecular basis of disease, AMSTERDAM, NL. Waterham H R; Wanders R J A, Vol. 1862, Nº 6, Páginas 1055 - 1062, ISSN 0925-4439, <DOI: doi:10.1016/j.bbadis.2016.02.004>	06.02.2016
D03	Lorenzo, V. et al. Nefrologia, Vol. 34, Nº 3, Páginas 398-412	00/00/2014
D04	Cristina Martin-Higueras et al..Molecucar therapy. Vol. 24, Nº 4, Páginas 719 - 725, ISSN 1525-0016, <DOI: doi:10.1038/mt.2015.224>	01.04.2016
D05	Candice b Summitt et al. Biochemical Journal, Vol. 466, Nº 2, Páginas 273 - 281, ISSN 0264-6021, <DOI: doi:10.1042/BJ20141159>	01.03.2015
D06	STENBERG K A J et al. Protein Science, Vol. 6, Páginas 1009 - 1015, ISSN 0961-8368	01.01.1997
D07	Klessig Daniel F et al. Frontiers in immunology Vol. 7, Artículo 206, Páginas 1-9 <DOI: doi:10.3389/fimmu.2016.00206 pubmed:27303403>	20.05.2016

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud se refiere al uso de derivados del ácido salicílico para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o patologías relacionadas con un exceso de oxalato, estas enfermedades se seleccionan del grupo formado por hiperoxaluria primaria, secundaria o litiasis renal idiopática por oxalato.

Los documentos D1 y D2 se refieren a la acción que presenta la piridoxina (vitamina B6) en reducir la excreción del oxalato que se produce en la hiperoxaluria primaria tipo 1 (PH1) causada por una deficiencia en la enzima alanina: glioxalato aminotransferasa (AGT). Esta enzima cataliza la transaminación del glioxilato a glicina. Pero en PH1 la deficiencia de AGT permite que el glioxilato se difunda hacia el citosol donde es oxidado a oxalato reacción catalizada por lactato deshidrogenasa. El objetivo de la administración de piridoxina es restaurar la actividad AGT redirigiéndola a su lugar correcto que son los peroxisomas y disminuir la producción de oxalato y glioxilato (ver documento D1, página 1777, primer párrafo y página 1782, conclusión y documento D2, página 1058, apartado 3.6).

El documento D3 es una revisión sobre la hiperoxaluria primaria y en él se citan los tratamientos que se conocen para evitar el acúmulo de oxalato tales como inhibidores de la cristalización, empleo de análogos de la vitamina D, dieta, enzimas degradadoras de oxalato, piridoxina...(ver páginas 406-409).

Los documentos D4 - D6 se refieren a los dos enzimas utilizados como dianas moleculares para el tratamiento de la hiperoxaluria. Por un lado, glicolato oxidasa (GO) enzima que cataliza la oxidación de glicolato a glioxilato (también participa en la oxidación de éste último a oxalato) (ver documento D4). En este documento se cita la utilización de un compuesto inhibidor de GO (CCPST) (ver página 722, columna 1). Por otro lado la enzima prolina deshidrogenasa (PRODH2) que cataliza de forma exclusiva la primera etapa en la conversión de trans-4-hidroxi-L-prolina en glioxilato (ver documento D5). La inhibición de PRODH2 se postula efectiva para el tratamiento de los tres tipos de hiperoxaluria mientras que la inhibición de GO resultaría útil en la PH-1 primaria. En el documento D6 se citan inhibidores de GO.

Los documentos citados (D1-D6) se refieren a diferentes formas de tratar la hiperoxaluria, pero en ninguno de ellos se encuentra referencia al ácido salicílico y su utilización en el tratamiento de dicha enfermedad.

Por otro lado, la utilización del ácido salicílico es de sobra conocida en el estado de la técnica. Así, el documento D7 se refiere a las múltiples utilidades de dicho compuesto y sus derivados en plantas y animales. Sin embargo, en dicho documento no se recoge el uso reivindicado en la presente solicitud, esto es, enfermedades o patologías asociadas con un exceso de oxalato.

En consecuencia, a la vista de los documentos citados D1-D7, de ninguno de ellos ni de ninguna combinación relevante de los mismos, sería evidente para un experto en la materia deducir la utilización del ácido salicílico en enfermedades relacionadas con un exceso de oxalato, en particular en la hiperoxaluria.

Por lo tanto, la materia correspondiente a las reivindicaciones 1-9 de la presente solicitud tiene novedad y actividad inventiva según los artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.