

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 443 041**

51 Int. Cl.:

C07D 311/30 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.08.2007** **E 07805638 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013** **EP 2057137**

54 Título: **S-(+)-7-[amino-2-hidroxipropoxi] flavonas N-sustituidas en la posición 3**

30 Prioridad:

09.08.2006 IN DE18032006

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.02.2014

73 Titular/es:

**COUNCIL OF SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL
RESEARCH (100.0%)
ANUSANDHAN BHAVAN RAFI MARG
NEW DELHI - 110 001, IN**

72 Inventor/es:

**PRATAP, RAM;
SINGH, HIMANSHU;
VERMA, ALOK KUMAR;
SINGH, AMAR BAHADUR;
TIWARI, PRITI;
SRIVASTAVA, MUKESH;
SRIVASTAVA, ARVIND KUMAR;
DWIVEDI, ANIL KUMAR;
SINGH, SATYAWAN;
SRIVASTAVA, PRATIMA;
SINGH, SHIO KUMAR;
NATH, CHANDISHWAR y
RAGHUBIR, RAM**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 443 041 T3

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

DESCRIPCIÓN

S-(+)-7-[amino-2-hidroxiopropoxi] flavonas N-sustituidas en la posición 3

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a S-(+)-7-[amino-2-hidroxiopropoxi] flavonas N-sustituidas en la posición 3 y a sales de las mismas. La presente invención se refiere a la síntesis de derivados de flavonas convenientemente sustituidas que poseen una marcada actividad antidiabética y antilipídémica. Más concretamente, la invención se refiere a la síntesis de S-(+)-7-[amino-2-hidroxiopropoxi] flavonas N-sustituidas en la posición 3 de fórmula I y a una composición farmacéutica que contiene estos derivados, tal y como se describe a continuación.

Antecedentes de la invención y estado de la técnica anterior

10 La diabetes mellitus tipo 2 resistente a la insulina representa el 90-95 % de todos los casos de diabetes. El cambio a un estilo de vida sedentario también ha contribuido al repunte de la enfermedad en la población adulta. La causa principal por la que se está produciendo este aumento de la incidencia es un acusado aumento de la obesidad, la responsable más importante de la patogénesis de la diabetes mellitus. Un estado patológico prolongado lleva a complicaciones crónicas macrovasculares tales como retinopatías y nefropatías. A la enfermedad se le conoce
15 colectivamente como síndrome metabólico y abarca la diabetes tipo 2 y el conjunto común de características clínicas estrechamente relacionadas. Entre los factores característicos cabe incluir la resistencia a la insulina por sí misma, la obesidad, la hipertensión y una forma común de dislipidemia y bajos niveles de colesterol de lipoproteínas de alta densidad. El síndrome metabólico está asociado a un marcado aumento de la incidencia de enfermedades coronarias, cerebrales y de las arterias periféricas [Resumen ejecutivo del tercer informe del Panel de expertos del Programa Nacional del Colesterol sobre la detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos (2001), J. Am. Med. Assoc. 285, 2486-2496].

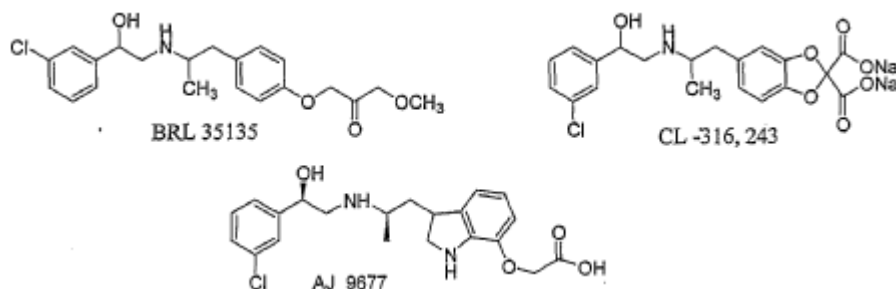
El papel de la resistencia a la insulina periférica y hepática en la patogénesis de la diabetes mellitus es indiscutible. La resistencia a la insulina puede deberse a múltiples defectos en la transducción de señales tales como una activación disminuida de la tirosina quinasa del receptor de insulina y una activación reducida de la fosfatidilinositol-
25 3-hidroxi quinasa estimulada por insulina. La resistencia de la insulina debida a una obesidad inducida por la dieta [Elchebly, M. et al. (1999), Science, 283, 1544.] ha llevado a determinar el papel fundamental que desempeña la obesidad en el desarrollo de la resistencia a la insulina y otras características del síndrome metabólico. Enfoques eficaces capaces de atenuar el apetito y/o aumentar el gasto de energía resultarán enormemente ventajosos en la prevención y tratamiento de la diabetes tipo 2. Se reconoce cada vez más que las anomalías en el metabolismo de los ácidos grasos son componentes fundamentales de la patogénesis del síndrome metabólico y de la diabetes tipo 2. Un factor fundamental en la potenciación del efecto promotor de la hiperinsulinemia en la acumulación de lípidos hepáticos es el factor de transcripción anabólico SREBP-1₃ que aumenta los genes como los de la sintasa de los ácidos grasos [Shimomura, I. et al. (2000), Mol. Cell, 6, 77-86]. Estas observaciones respaldan la hipótesis unificada de la "lipotoxicidad", que señala que la causa del síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 puede deberse a la
35 acumulación de triglicéridos y de CoA de acilo graso de cadena larga en el hígado y en los músculos. El tercer factor causal del síndrome metabólico es el estrés oxidativo. Unos niveles de oxígeno excesivos en el cuerpo también pueden representar una grave amenaza para la salud. La denominada toxicidad por oxígeno la provocan especies de oxígeno tales como el peróxido de hidrógeno y los radicales oxi ya que dañan los tejidos vivos. Las especies de oxígeno activo están asociadas a la diabetes mellitus y destruyen varios tejidos como ocurre en el caso de la
40 diabetes mellitus. Existen numerosos informes en los que se habla de las relaciones entre la peroxidación y algunas enfermedades como la diabetes mellitus, la aterosclerosis y la isquemia miocárdica en términos de oxidación radical. La glucosa se oxida bajo un estrés oxidativo en especies altamente reactivas, que terminan por reaccionar con las proteínas. La glucosa, al igual que otros α -hidroxí aldehídos, se puede enolizar y reducir así el oxígeno molecular bajo condiciones fisiológicas, catalizadas con metales de transición, obteniéndose α -ceto aldehídos e intermedios oxidantes. Estos compuestos secundarios son más reactivos que los monosacáridos y pueden reaccionar con proteínas para formar productos Maillard reticulados (Simon P. Wolff et al. 1991; Free Radical Biology and Medicine, 10, 339-352.).

El estrés oxidativo también modifica los lípidos. Al igual que la glucosa, la LDL también sufre una modificación oxidativa para formar una LDL modificada (LDL oxidada). Se cree que el proceso de oxidación real comienza con
50 una peroxidación lipídica, seguida de una fragmentación que da como resultado aldehídos de cadena corta. Estos aldehídos reaccionan a su vez con los residuos de lisina de las apo-B, creando un nuevo epítipo, que es reconocido por el receptor barredor de macrófagos. Durante este mismo proceso, la lecitina se convierte en lisolecitina que es un agente quimiotáctico selectivo para los monocitos. Los monocitos entran en el subendotelio y sufren un cambio fenotípico en un macrófago que se come con avidez la LDL oxidada a través del receptor barredor. La toma de LDL oxidada continúa hasta que el macrófago está tan repleto de ésteres de colesterol que se transforma en una célula
55 espumosa. Los grupos de estas células espumosas constituyen una línea de grasa, el distintivo inicial de la

ateroesclerosis. Con la inhibición de la oxidación de la LDL, se espera que pueda evitarse la modificación de las apo-B y la producción de lisolecitina quimiotáctica y, a su vez, la aterosclerosis.

De momento, la terapia para la diabetes tipo 2 se basa principalmente en varios enfoques destinados a reducir la hiperglucemia en sí misma: Sulfonilureas que aumentan la secreción de insulina por parte de las células beta pancreáticas; Metformina que actúa para reducir la producción de glucosa hepática, agonistas de receptores y activados por proliferadores de peroxisomas que aumentan la acción de la insulina e inhibidores de la α -glucosidasa que interfieren en la buena absorción de la glucosa. Estas terapias tienen una eficacia limitada, una tolerabilidad limitada y una toxicidad basada en mecanismos. Suscita especial preocupación la tendencia de la mayoría de los tratamientos a aumentar el peso. Un problema particular respecto a las sulfonilureas es que muchos pacientes que responden inicialmente al tratamiento, se convierten en resistentes al mismo con el tiempo.

La creciente prevalencia de la obesidad y sus comorbilidades asociadas incluidas la diabetes tipo 2 y los trastornos cardiovasculares relacionados ha estimulado los esfuerzos por desarrollar nuevos enfoques eficaces para el tratamiento de estos estados. Mientras que la mayoría de los enfoques terapéuticos consisten en alterar el equilibrio de la energía metabólica a base de reducir la ingesta de energía, un enfoque alternativo para el control de la obesidad es influir en un aumento de la tasa de gasto de energía. En 1984, se presentaron por primera vez compuestos de la clase de las fenetanolaminas como los presentados a continuación, que tienen propiedades termogénicas en roedores. A pesar de su similitud estructural con los ligandos adrenorreceptores β_1 y β_2 conocidos, los estudios farmacológicos indicaron que estos compuestos estimulan un tercer receptor adrenérgico o β "atípico" (β -AR) que ahora se describe como β_3 -AR. El agonista β_3 también aumentó la sensibilidad a la insulina y la utilización de la glucosa. Estudios posteriores sugirieron que la mutación del β_3 -AR Tyr 64 Arg en la población humana desempeña una función en el desarrollo de la diabetes mellitus y/o la obesidad en algunos individuos que poseen esta variante genética [Turner, N. C.; (1996), DDT, 1, 109-116]. Entre los compuestos de fenetanolamina como agente termogénico que actúa en el receptor adrenérgico β_3 , el CL-316,243 está mostrando una actividad prometedora en los seres humanos.



El paradigma del diseño actual del fármaco ha pasado de un fármaco dirigido a una sola diana a uno dirigido a múltiples dianas denominado modelos de redes que sugieren la inhibición parcial de un número sorprendentemente pequeño de dianas que pueden resultar más eficaces que la inhibición completa de una sola diana. La troglitazona es un fármaco de este tipo que tenía farmacóforos para centrarse en dos dianas. Sin embargo fracasó debido a sus metabolitos tóxicos. A la hora de diseñar un fármaco para el síndrome metabólico X, nos centramos en el estrés oxidativo y en la estimulación de la termogénesis. Intentamos amalgamar el farmacóforo para los dianas antedichas en una sola molécula. Se seleccionaron flavonoides como estructura básica para unir farmacóforos para la termogénesis. Los flavonoides se encuentran entre los grupos farmacóforos de compuestos polifenólicos en alimentos de origen vegetal. Como constituyentes integrales de la dieta, pueden ejercer una amplia variedad de efectos beneficiosos para la salud humana. Los flavonoides producen tales efectos biológicos a través de sus actividades antioxidantes de barrido de radical libre y la capacidad de quelación de los iones de metal. (Cotelle, N. et al, Free Rad. Biol. Med. 1992, 13, 211). Estas propiedades nos llevaron a la utilización de flavonas para la síntesis de moléculas híbridas como agentes antidiabéticos y antidislipidémicos mediante la sustitución por farmacóforos termogénicos además de farmacóforos de sensibilización a la insulina. En nuestra solicitud anterior hemos reivindicado la 2-hidroxiopropoxi flavona N-sustituida en la posición 7 como un potente agente antilipidémico y antidislipidémico. Aquí reivindicamos la actividad antidiabética y antidislipidémica de sus enantiómeros ópticos.

En la patente WO 2006/040621 A, Council Scient Ind Res, Pratap Ram *et al.*, de 20 de abril de 2006, se presentan derivados de flavonas sustituidas que presentan una actividad antihiper glucémica y antidislipidémica.

E. S. C. Wu *et al.*, "Flavones. 3. Synthesis, Biological Activities, and Conformational analysis of Isoflavone Derivatives and Related Compounds", J. Med. Chem., vol. 35, 1992, págs. 3519-3525, presenta una serie de derivados de 2-alquilisoflavonas y estudia su actividad antihipertensiva.

He X *et al.*, "Synthesis Of Flavone And Flavanone-7-O-Isopropanolamine Derivatives And Their Antiarrhythmic Activity", Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi - Chinese Journal Of Medical Chemistry, Gai-Kai Bianjibu, Shenyang, CN, vol. 1, nº. 1, 1990, págs. 11-20, presenta derivados de flavonas y estudia su actividad antiarrítmica.

- 5 En la patente EP-A-0 288 077 (Pennwalt Corp), de 26 de octubre de 1988, se presenta el uso del hidrobromuro de 7-[3-[(3,4-dihidroxifenetil)amino]-2-hidroxi-propoxi] en el tratamiento de la anafilaxia de ratas.

- 10 Wu E S C *et al.*, "Flavones 2. Synthesis And Structure-Activity Relationship Of Flavodilol And Its Analogues A Novel Class Of Antihypertensive Agents With Catecholamine Depleting Properties", Journal Of Medicinal Chemistry, American Chemical Society, Washington, US, vol. 32, nº. 1, 1989, págs. 183-192, presenta una serie de flavonoxipropanolaminas y estudia su actividad antihipertensiva.

- 15 En la patente EP-A-0 064 165 (Pennwalt Corp) de 10 de noviembre de 1982 se presenta una 7-(3-n-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-2,3-difenilcromona y se estudia su efecto como agente antihipertensivo.

Wang Ding *et al.*, "Synthesis Of Some (2-Hydroxy-3-Aminopropoxy) Flavones", Yao Hsueh Hsueh Pao - Acta Pharmaceutica Sinica, Beijing, CN, vol. 15, nº. 4, 1980, págs. 253-256, presenta la preparación de (2-hidroxi-3-aminopropoxi) flavonas.

Objetivos de la presente invención

- 20 El objetivo principal de la presente invención es proporcionar S-(+)-7-[amino-2-hidroxi-propoxi] flavonas N-sustituidas en la posición 3 y sales de las mismas.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I.

Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que contiene estos derivados de flavonas y un vehículo o diluyente de las mismas farmacéuticamente aceptable.

- 25 Otro objetivo más de la presente invención es proporcionar un método para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y sus estados hiperlipidémicos asociados en un mamífero mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I, opcionalmente junto con excipientes farmacéuticamente aceptables.

Resumen de la invención

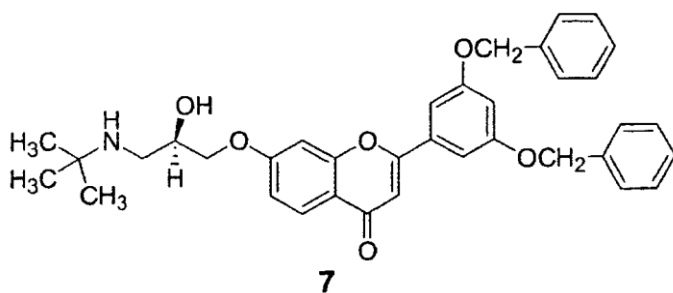
La presente invención es tal como se define en las reivindicaciones.

- 30 La presente invención se definirá ahora en referencia a las cláusulas siguientes:

1. Un compuesto ópticamente activo seleccionado del grupo que consiste en:

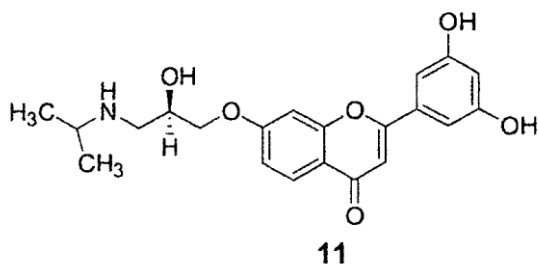
- 35 (a) S-(+)-7-(3-terc-butilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (7);
(b) S-(+)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi- flavona (10);
o
(c) S-(+)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (11).

2. Un compuesto conforme a la cláusula 2, en donde el compuesto es:



3. Un compuesto conforme a la cláusula 2, en donde el compuesto es:

5



4. Un compuesto conforme a la cláusula 2, en donde la sal del compuesto se selecciona del grupo que consiste en clorhidrato, succinatos, fumaratos y tartratos.

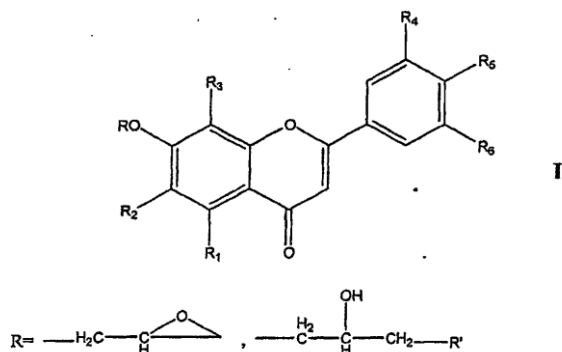
10 5. Un compuesto conforme a la cláusula 1, en donde el compuesto presenta una actividad antidiabética y de reducción de lípidos a una dosis que oscila entre 10-250 mg/kg de peso corporal.

6. Un compuesto conforme a cualquiera de las cláusulas 1 a 5 para su uso en un método de tratamiento de la diabetes tipo 2 y la dislipidemia en mamíferos, cuyo método consiste en el paso de administrar una cantidad farmacéuticamente aceptable del compuesto, opcionalmente con los excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 La invención también proporciona un método para controlar la diabetes "tipo 2" y los estados hiperlipidémicos asociados en un mamífero mediante la administración de estos compuestos y composiciones que contienen estos derivados.

Descripción detallada de la invención

20 En este sentido, la presente divulgación proporciona un compuesto ópticamente activo de fórmula general I y sales del mismo:



en donde R' se selecciona de un grupo que consiste en t-butilamina, n-butilamina, iso-butilamina, iso-propilamina, 4-fenil-piperazin-1-ilamina, 4-(2-metoxifenil)-piperazin-1-ilamina, y 3, 4-dimetoxifenetilamina;

en donde R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, metilo o isopentenilo; R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan del grupo que consiste en OH, O-alquilo, O-bencilo, fenilo O-sustituido o una combinación de los mismos.

- 5 Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula I y cantidades farmacéuticamente aceptables de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable convencional del mismo.

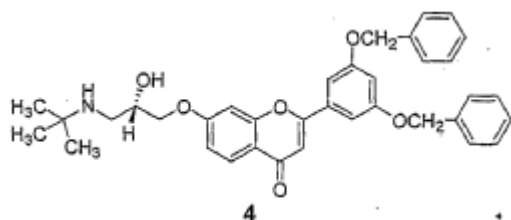
En otro aspecto más de la presente divulgación, el compuesto de fórmula I se utiliza junto con cantidades farmacéuticamente aceptables de agentes reductores de lípidos convencionales y/o agentes reductores del nivel de azúcar convencionales.

- 10 En otro aspecto más de la presente divulgación se proporciona un método para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y los estados hiperlipidémicos asociados de mamíferos mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente efectiva del compuesto de fórmula I, opcionalmente con otros agentes diabéticos o reductores de lípidos convencionales.

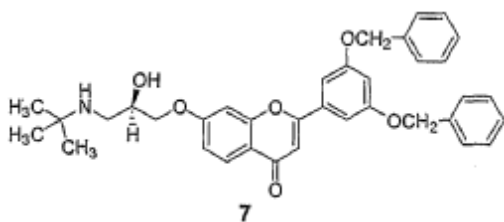
- 15 En otro aspecto más de la presente divulgación se proporciona un método para el tratamiento de estados macrovasculares tales como retinopatías y nefropatías de mamíferos mediante la administración de una cantidad farmacéuticamente efectiva del compuesto de fórmula I, opcionalmente con otros agentes diabéticos o reductores de lípidos convencionales.

En otro aspecto más de la presente divulgación, el rango de dosis farmacéuticamente efectiva es de 10-250 mg / kg de peso corporal del compuesto.

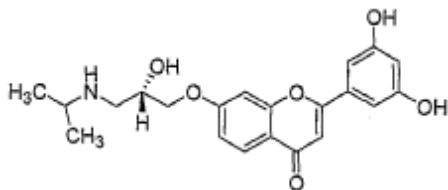
- 20 En otro aspecto más de la presente divulgación se proporciona un compuesto de fórmula (4) de configuración R.



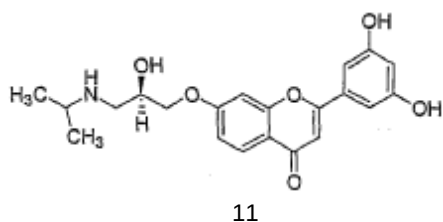
En otro aspecto más de la presente divulgación se proporciona un compuesto de fórmula (7) de configuración S.



- 25 En otro aspecto más de la presente divulgación se proporciona un compuesto de fórmula (9) de configuración R.



En otro aspecto más de la presente divulgación se proporciona un compuesto de fórmula (11) de configuración S.

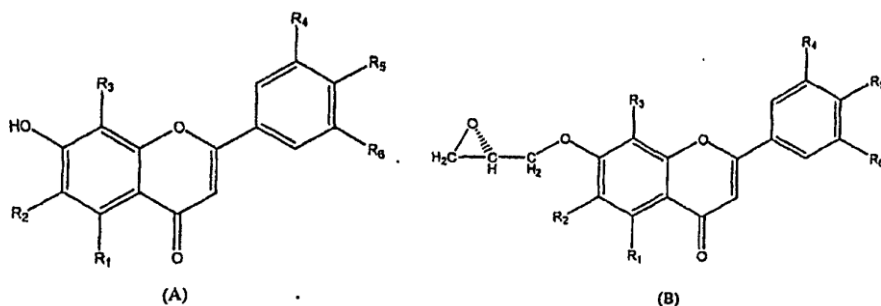


En otro aspecto más de la presente divulgación se proporciona un compuesto que tiene la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde los compuestos representativos son:

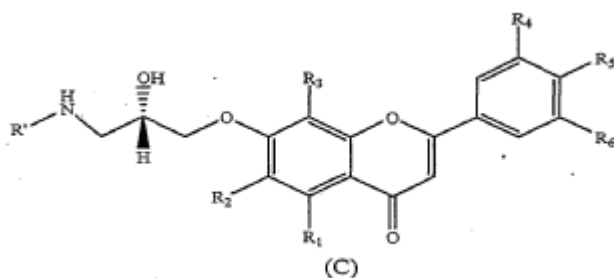
- a) R-(-)-7-(3-terc-butilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (4);
- b) S-(+)-7-(3-terc-butilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (7);
- c) R-(-)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (8);
- d) R-(-)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (9);
- e) S-(+)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (10);
- f) S-(+)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (11);

En estos términos, la presente invención proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula general I, que consiste en los pasos de:

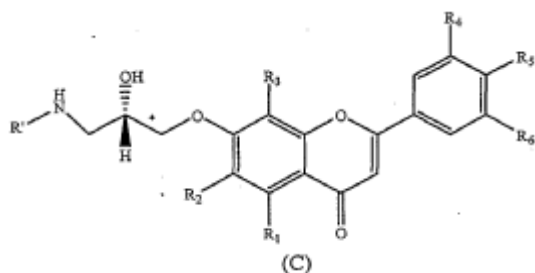
- (i) hacer reaccionar hidroxiflavona sustituida de fórmula general A en donde R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, metilo o isopentenilo; en donde R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan del grupo que consiste en O-alquilo, O-bencilo, hidroxi O-sustituido, fenilo o una combinación de los mismos, con R o S *epi*-clorhidrina ópticamente activa seguido de una reacción con una base para obtener las 2,3-epoxi-propoxi-flavonas invertidas del compuesto de fórmula B,



- (ii) calentar las 2,3-epoxi-propoxi-flavonas de la fórmula B obtenidas en el paso (i) bajo reflujo, con una amina en un alcohol para obtener propanolaminas de fórmula C en donde R' se selecciona de un grupo que consiste en t-butilamina, n-butilamina, iso-butilamina, iso-propilamina, 4-fenil-piperazin-1-ilamina, 4-(2-metoxifenil)-piperazin-1-ilamina, y 3,4-dimetoxifenetilamina,



(iii) someter a la propanolamina obtenida en el paso (ii) a una desbencilación a través de un proceso de hidrogenación catalítica para obtener las propanolaminas derivadas de hidroxiflavonas correspondientes de fórmula general C en donde R₄, R₅ y R₆ se seleccionan del grupo de H, OH y O-metoxi.



(iv) convertir el compuesto de fórmula C en sales mediante un método conocido.

En una realización de la invención, la base se selecciona del grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de benciltriethylamonio.

En otra realización de la invención, la amina utilizada se selecciona del grupo que consiste en alquilaminas de un grupo de alquilo en parte cíclico y en parte acíclico.

En otra realización de la invención, el alcohol utilizado se selecciona del grupo que consiste en etanol y propanol.

En otra realización de la invención, la desbencilación se lleva a cabo utilizando Pd-C como catalizador bajo una presión de hidrógeno de entre 275-690 Kpa (40-100 psi).

En otra realización de la invención, la sal de la fórmula general se selecciona del grupo que consiste en clorhidrato, fumarato y tartratos.

En estos términos, en la presente divulgación se proporciona un método para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y la dislipidemia en mamíferos, cuyo método consiste en el paso de administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva del compuesto de fórmula I, y sales del mismo, opcionalmente con los excipientes farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto de la divulgación, la cantidad farmacéuticamente efectiva del compuesto de fórmula I es de 10-100 mg/kg de peso corporal.

En otro aspecto de la divulgación, el sujeto puede seleccionarse de animales, incluyendo los seres humanos.

En otra realización de la invención, se registró que la bajada máxima de glucosa en sangre con el compuesto de fórmula I era de un 61,1 % aproximadamente a una dosis de unos 25 mg/kg de peso corporal.

En otra realización más de la invención, el compuesto (S)-(+)-7-(3-terc-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7) mostró un aumento del nivel de HDL- colesterol del 33,2% en comparación con los grupos de control a una dosis de unos 25 mg/kg de peso corporal.

En otra realización más de la invención, el valor ED₅₀ del compuesto de fórmula general I se encuentra dentro del rango de 17,84 a 32,93 mg/kg

En otra realización de la invención, el compuesto (S)-(+)-7-(3-terc-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7) aumenta el nivel de HDL- colesterol más del doble en comparación con el compuesto racémico a una dosis de unos 25 mg/kg de peso corporal.

Química:

- 5 Las ariloxipropanolaminas son farmacóforos bien establecidos para los receptores β -adrenérgicos y, por lo tanto, varias síntesis enantioselectivas, utilizando glicerol-1,2-acetonida quiral [Danilewicz J.C., Kemp J.E.G., J. Med. Chem., 16168 (1973)], glicidilarenosulfonato [Klunder J.M., Onami T. Sharpless K.B., J.Org. Chem 54, 1295 (1989)] o *epi*-clorhidrina [Baldwin J.J., Raab A. W., Mensler K., Arison B.H., McClure D. E., J.Org. Chem. 43, 4876 (1978)] y
- 10 [Seld T., Kanada A., Nakao T., Shiraiwa M., Asano H., Miyazawa K., Ishimori T., Minami N., Shibata K., Yasuda K., Chem Pharma Bull 46(1), 84 (1998)] son conocidas en la literatura. Un anión fenóxido reacciona con un derivado glicídilo bien en C-1 o C-3 dependiendo de la reactividad del sustituyente de la posición alílica del oxirano. El ataque en C-1 provoca el desplazamiento directo de X (trayectoria a) en el caso del arenosulfonato mientras que en C-3, en el caso de la *epi*-clorhidrina provoca la apertura del ciclo epóxido, que tras el desplazamiento interno del grupo saliente X (trayectoria b), tal y como se muestra en la Fig. I, da como resultado el producto de configuración opuesta a la trayectoria a. Nosotros sintetizamos los isómeros ópticos de nuestro producto siguiendo la trayectoria b.
- 15

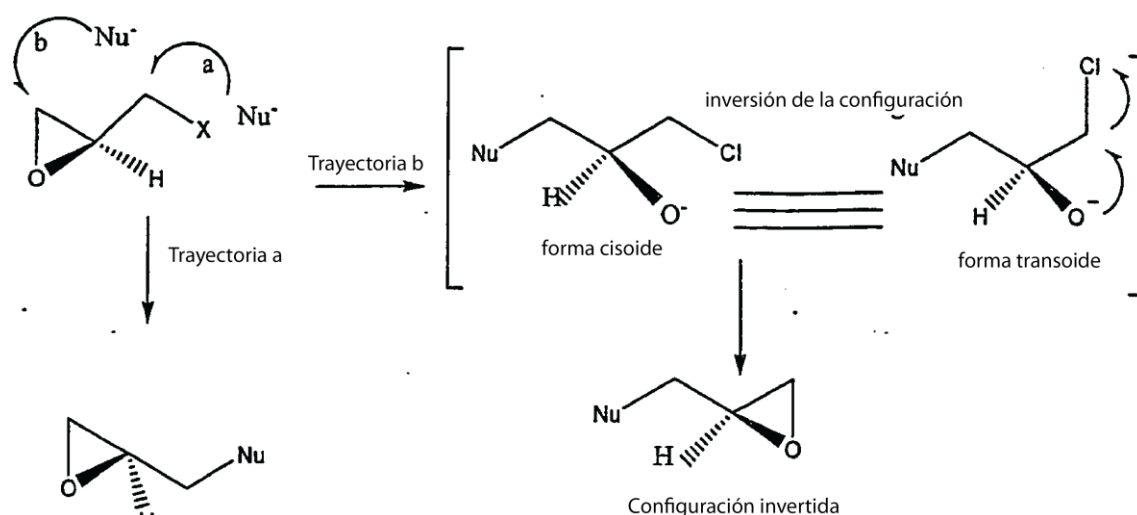


Fig I

- Por lo tanto, cuando la reacción de la flavona se llevó a cabo con (R)-*epi*-clorhidrina a 120 °C sin el disolvente, la clorhidrina intermedia se obtuvo en una producción excelente. La clorhidrina sin purificar en tolueno y tratada con NaOH acuoso en presencia de una cantidad catalítica de cloruro de trietilvencilamonio (TEBA) catalizador de
- 20 transferencia de fase para obtener un S-isómero en una cantidad del 79 % con un 95 % de ee. Así, la reacción de sustitución nucleofílica a 120 °C tuvo lugar en el átomo de C terminal del ciclo epóxido con una alta regioselectividad, probablemente mediante la activación del complejo (Fig. II) tal y como supone McClure D.E., Arison B.H., Baldwin J.J., J. Am. Chem. Soc, 101, 3666(1979).

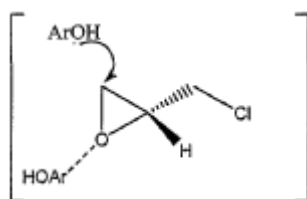


Fig. II

El epóxido así obtenido se trató con la amina apropiada en metanol para obtener el derivado de aminopropanol deseado. La pureza de estos compuestos se determinó mediante una HPLC comparando el gráfico de la mezcla

racémica con el gráfico de los enantiómeros. El estudio HPLC se llevó a cabo en una columna Chira Sphere NT (250 mm x 0,4 mm, 5 µm, Merck) utilizando una mezcla de hexano disolvente: iso-propanol: metanol: amoníaco (en una relación de 60:40:5:0,5 ml) a una velocidad de flujo de 2 ml/min y una detección del pico a 240 nm bajo UV. El gráfico de una de las muestras y sus enantiómeros se muestran en la Figura III.

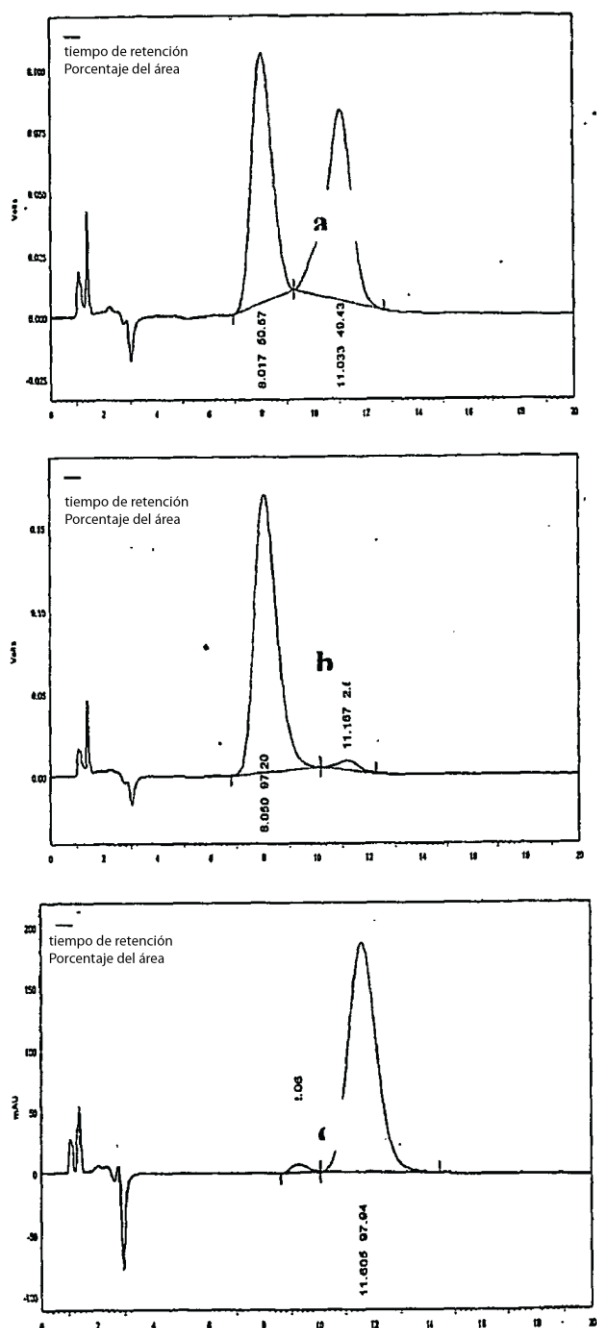


Fig III

5

Fig. III (a) Patrón de elución de la mezcla racémica del compuesto S002-853; (b) del S- enantiómero 7; y (c) del R- enantiómero 4 sobre una columna HPLC.

Ejemplo comparativo 1:

(R)- (-)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S002- 853 R, Fig. IV):

Se agitó una mezcla de 3',5'-dibenciloxi-7-hidroxi flavona (1, 1,0 gm, 2,2 mmol) y (S)-*epi*-clorhidrina (1,0 ml, 12,0 mmol) durante 2 horas aproximadamente a 120 °C. La mezcla de reacción enfriada se introdujo en tolueno y a esto se le añadió, gota a gota, una solución de NaOH (10 mg, 0,25 mmol) y cloruro de benciltrietilamonio (10 mg, 0,04mmol) en agua, agitando a temperatura ambiente durante 2 horas y la capa orgánica se separó, se dejó secar sobre sulfato de sodio y se dejó evaporar el disolvente a presión reducida para obtener una 3',5'-dibenciloxi-7-(2,3-epoxi-propoxi)flavona bruta (3) de configuración R. Rendimiento (900 mg, 80 %)

La (R)-3',5'-dibenciloxi-7-(2,3-epoxi-propoxi)flavona (600 mg, 4,9 mmol) y *terc*-butilamina (0,26 ml, 9,8 mmol) en metanol seco (50 ml) de arriba se agitaron a reflujo durante 6 horas aproximadamente. Se dejó evaporar el disolvente a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía de columna para obtener una (R)-(-)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4) Rendimiento (650 mg, 93 %); m.p. 158 °C; $[\alpha]_D = -8,6$ (c=1,5 %, CHCl₃).

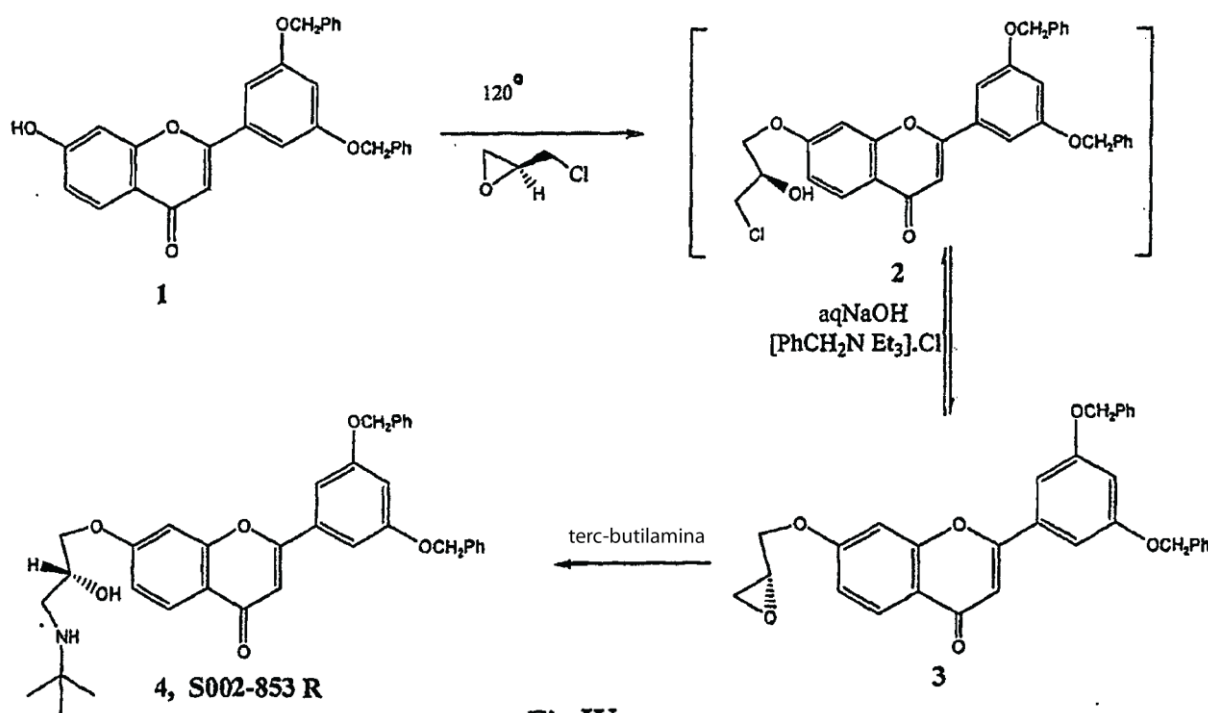


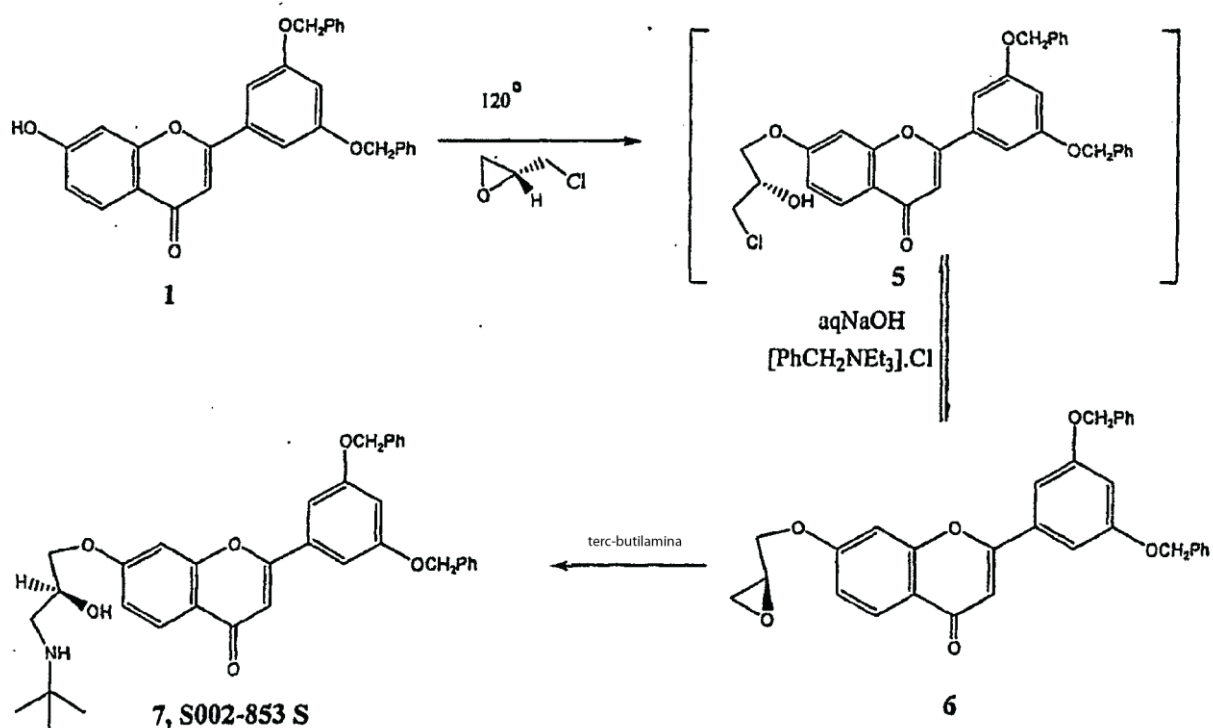
Fig IV

Ejemplo 1

(S)- (+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S002-853 S, Fig. V):

Se agitó una mezcla de 3',5'-dibenciloxi-7-hidroxi flavona (1) (1,2 g, 2,6 mmol) y (R)-*epi*-clorhidrina (1,12 ml, 15,0 mmol) durante 2 horas aproximadamente a 120 °C. La mezcla de reacción enfriada se introdujo en tolueno y a esto se añadió una solución de NaOH (15 mg, 0,37 mmol) y cloruro de benciltrietilamonio (15 mg, 0,06 mmol) en agua y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se separó la capa orgánica, se dejó secar sobre sulfato de sodio y el disolvente se retiró a presión reducida para obtener una (S)-(+)-7-(2,3-epoxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (6) bruta. Rendimiento (1,12 g, 83 %)

La solución de (S)-3',5'-dibenciloxi -7-(2,3-epoxi-propoxi)-flavona (500 mg, 4,9 mmol) en metanol seco (50 ml) y *terc*-butilamina (0,2 ml, 9,8 mmol) de arriba se agitó a reflujo durante 6 horas. Se retiró el disolvente a presión reducida y el producto bruto se purificó mediante cromatografía de columna para obtener una (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (7). Rendimiento (520 mg, 93 %); m.p. 165 °C; $[\alpha]_D = +9,0$ (c=20 mg/7,5 ml de CHCl₃).



(R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (9, S002-857 R, Fig. VI):

Se agitó una mezcla de 3',5'-dibenciloxi-7-hidroxi-flavona (1) (1 g, 2,2 mmol) y *S-epi*-clorhidrina (1,0 ml, 12,0 mol) durante 2 horas aproximadamente a 120 °C. La mezcla enfriada se introdujo en tolueno y a esto se añadió una solución de NaOH (10 mg, 0,25 mmol) y cloruro de benciltrietilamonio (10 mg, 0,04 mmol) en agua y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se separó la capa orgánica, se dejó secar sobre sulfato de sodio y se dejó evaporar a presión reducida para obtener una R-3',5'-dibenciloxi-7-(2,3-epoxi-propoxi)-flavona (3) bruta. Rendimiento (900 mg, 80%)

La solución de (R)-3',5'-dibenciloxi-7-(2,3-epoxi-propoxi)-flavona (600 mg, 4,9 mmol) e *iso*-propilamina (0,5 ml, 14,7 mmol) en metanol seco (50 ml) de arriba se agitó a reflujo durante 6 horas aproximadamente. El disolvente se retiró a presión reducida y el producto bruto así obtenido se purificó mediante cromatografía de columna para obtener una (R)-7-(2-hidroxi-3-isopropilamino-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (8) Rendimiento (550 mg, 79 %)

Se agitó (R)-3',5'-dibenciloxi-7-(2-hidroxi-3-isopropilamino-propoxi)-flavona (300 mg, 2,12 mmol) en metanol seco (40 ml) con un 10 % de Pd/C (cantidad suficiente) bajo atmósfera de hidrógeno. El catalizador se filtró y el disolvente se retiró a presión reducida para obtener el producto de (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilamino-propoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (9). Rendimiento (200 mg, 98 %) m.p. 124 °C; $[\alpha]_D^{20} = -9$ (c=20 mg/7,5 ml de un 2 % de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$).

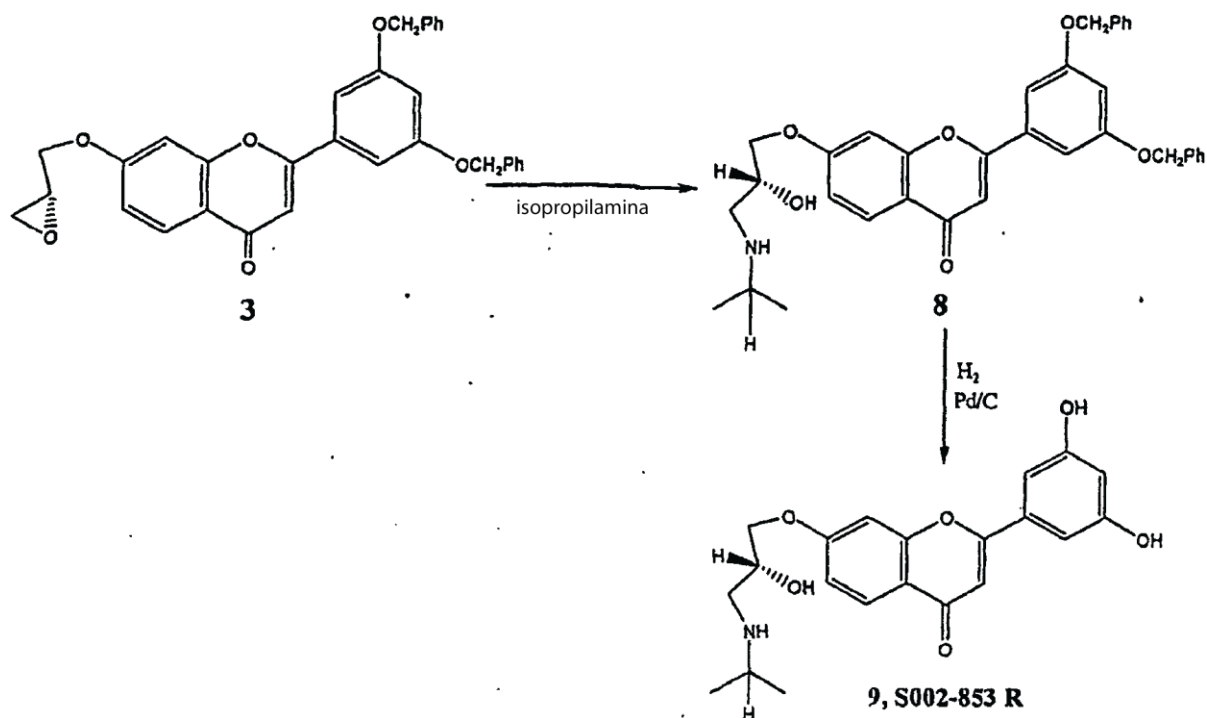
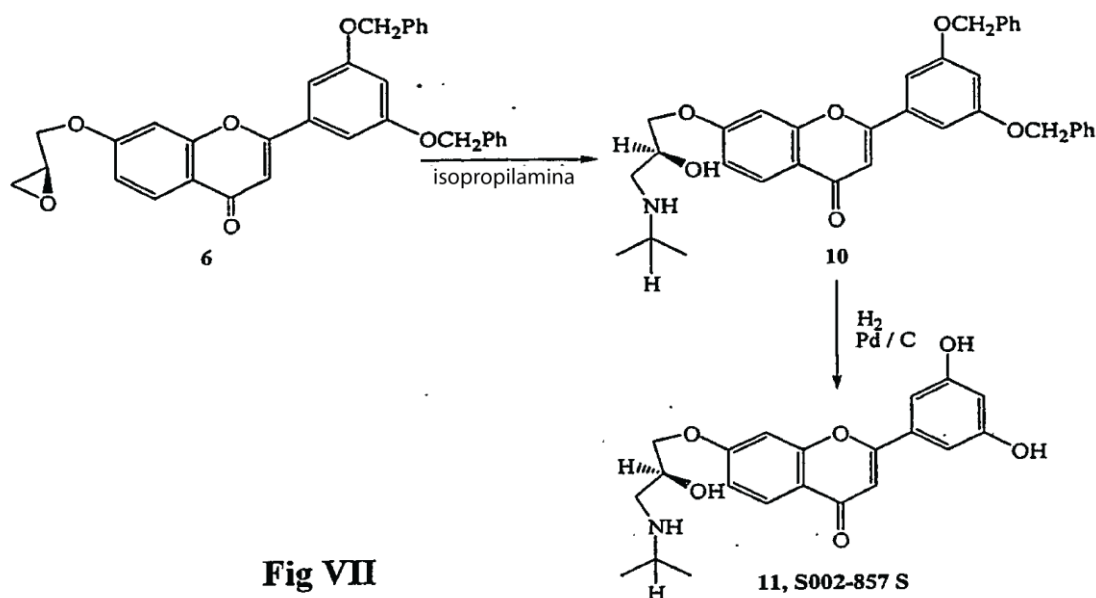


Fig VI

Ejemplo 2

(S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (11, S002-857 S, Fig. VI):

- 5 Se agitó una mezcla de 3',5'-dibenciloxi-7-hidroxi-flavona (1,2 g, 2,6 mmol) y *R-epi*-clorhidrina (1,2 ml, 15,0 mmol) durante 2 horas aproximadamente a 120 °C. La mezcla de reacción enfriada se introdujo en tolueno y a esto se añadió una solución de NaOH (15 mg, 0,37 mmol) y cloruro de benciltriethylamonio (15 mg, 0,06 mmol) en agua y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se separó la capa orgánica, se dejó secar sobre sulfato de sodio y se retiró el disolvente a presión reducida para obtener una S-3',5'-dibenciloxi-7-(2,3-epoxi-propoxi)-flavona (6) bruta. Rendimiento (1,12 g, 83 %).
- 10 La solución de (S)-7-(2,3-epoxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (500 mg, 4,9 mmol) e *iso*-propilamina (0,3 ml, 14,7 mmol) en metanol seco (50 ml) de arriba se agitó a reflujo durante 6 horas aproximadamente. El disolvente se retiró a presión reducida y el producto bruto así obtenido se purificó mediante cromatografía de columna para obtener una (S)-7-(2-hidroxi-3-*isopropilamino*-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (10). Rendimiento (440 mg, 79 %).
- 15 Se agitó (S)-7-(2-hidroxi-3-*isopropilamino*-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (250 mg, 2,12 mmol) en metanol seco (40 ml) y un 10 % de Pd/C (cantidad suficiente) en atmósfera de hidrógeno a una presión de 276 kPa (40 psi) aproximadamente. El catalizador se filtró y el disolvente se retiró para obtener el producto de (S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-*isopropilamino*-propoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (11). Rendimiento (160 mg, 98 %) m.p. 130 °C; $[\alpha]_D = +15,4$ (c=20 mg/7,5 ml de un 2 % de CHCl₃/MeOH).



Evaluación biológica:

5 Protocolo experimental:

En estos experimentos se utilizaron ratones db/db C57BL/KsBom (de 12 a 18 semanas de edad) y un peso de 35 + g criados en el criadero del CDRI de Lucknow. Los ratones se introdujeron en grupos de 3 a 5 (mismo sexo) en una sala a temperatura controlada ($23 \pm 2,0^\circ\text{C}$) y un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas (luces encendidas a las 6:00 AM). Se pesó cada animal a diario desde del día 1 hasta el día 10 del experimento. Todos los animales podían beber agua fresca y comer una dieta de pellets normales siempre que quisieran excepto el día del protocolo postprandial (día 6) y durante el ayuno nocturno antes del TTOG del día 10. Durante los períodos experimentales los animales podían beber agua en todo momento. Todas las mañanas se comprobó el nivel de glucosa en sangre hasta el día 10. El día 10 se realizó el test de tolerancia oral a la glucosa (TTOG) tras un ayuno nocturno. El nivel de glucosa en sangre se midió a los -30,0 min y se administraron los compuestos del ensayo. A los 0 min, justo después del tratamiento, se volvió a medir el nivel de glucosa en sangre y en ese momento se administró una solución de glucosa a una dosis de 3 gm/kg a todos los grupos incluido el grupo tratado con el vehículo. Los niveles de glucosa en sangre se comprobaron a los 30 min, 60 min, 90 min y 120 min después de la administración de la glucosa. Se analizó la significancia de los datos con el software Prisma.

Perfil de la actividad antihiper glucémica:

20 (S)- (+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S):

Resulta evidente, a la vista de los datos, que el compuesto (7, S-002-853 S) presenta una actividad antihiper glucémica y antidislipidémica significativa en ratones db/db a una dosis de 25 mg/kg. A esta dosis se observó una bajada máxima del perfil de glucosa en sangre el día 6 del tratamiento, tal y como se muestra en la tabla 1. El porcentaje de bajada máxima del nivel de glucosa en sangre se registró en un 61,1 % aproximadamente. En la Fig. VIII se muestra la presentación gráfica del perfil de glucosa en sangre frente a los días de tratamiento a un nivel de dosificación de 25 mg/kg. En la Fig. IX y en la tabla 2 se presenta el efecto de los 10 días de tratamiento con el compuesto en la tolerancia a la glucosa de los ratones db/db. Se calculó que este efecto fue de un 45,3 % aproximadamente.

En la tabla 3 y en la Fig. X se presenta el perfil de actividad antidislipidémica de la (S)-(+)-7-(3- *terc*-butilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) en ratones db/db a un nivel de dosificación de 25 mg/kg. Se registró una disminución en el caso del colesterol y los triglicéridos séricos con el tratamiento con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxilpropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) de aproximadamente un 21,8 % y un 14,5 %, respectivamente, a una dosis de 25 mg/kg. Se midió un aumento del 33,2 % del nivel de HDL-colesterol en los grupos de control, mientras que en los ratones db/db tratados con una dosis de 25 mg/kg de (S)-(+)-7-(3-*terc*-

butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'- dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) se midió una reducción del 29,4 % aproximadamente.

Tabla 1: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2- hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S).

	Glucosa en sangre (mM) a los distintos días post tratamiento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tratados con placebo	22,4 ±1,69	25,0 ±3,24	21,4 ±5,07	23,6 ±3,81	19,8 ±4,63	19,4 ±5,12	22,2 ±5,91	20,8 ±4,80	19,1 ±4,10
Tratados con S-002-853 (S) (25 mg/kg)	22,4 ±1,24	16,6 ±3,85	12,9 ±3,00	10,6 ±2,89	8,80 ±3,84	7,60 ±3,46	10,6 ±2,20	8,30 ±1,13	7,90 ±1,30
% de cambio en comparación con el control	+0,20	-33,6	-39,5	-54,9	-55,6	-61,1	-52,2	-60,0	-58,5
Significancia estadística	ns	ns	ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

5

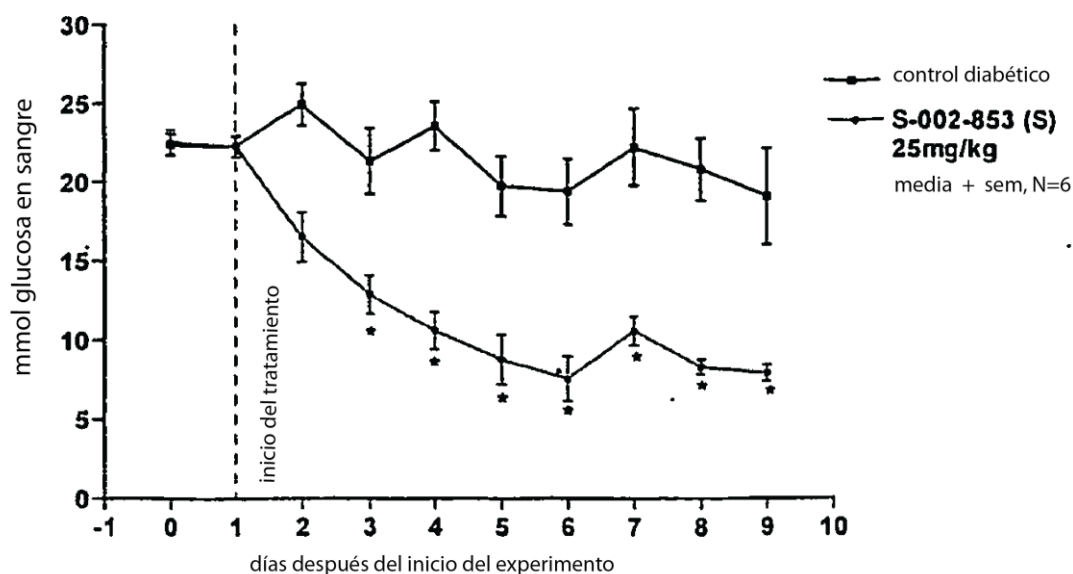


Fig. VIII: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2- hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) en distintos días.

10 Tabla 2: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2- hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S).

	Perfil de glucosa en sangre (mM) a distintos minutos tras una carga de glucosa					
	-30	0	30	60	90	120
Tratados con placebo	8,09 ±0,63	8,28 ±0,63	29,0 ±2,06	31,5 ±0,91	23,8 ±2,73	21,1 ±3,36
Tratados con S-002-853 (25 mg/kg)	4,57 ±0,30	4,81 ±0,35	17,8 ±1,24	16,3 ±1,82	13,0 ±1,66	8,83 ±0,72
% de cambio en comparación con el control	-43,5	-41,8	-38,6	-48,3	-45,5	-58,2

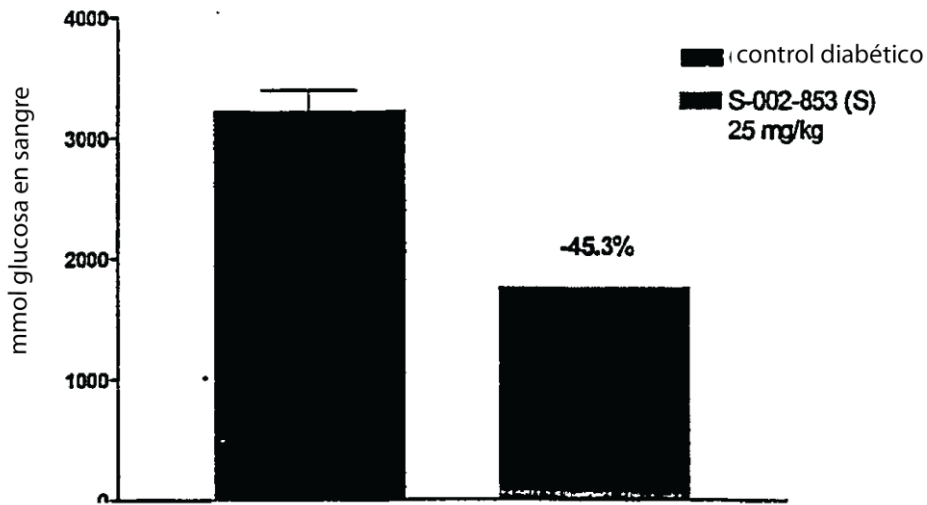


Fig. IX: Efecto de la S-002-853 S en el test de tolerancia oral a la glucosa en ratones db/db. Los valores de glucosa en sangre son Medios $\pm$ SE de 6 animales por grupo. Significancia: * $p < 0,05$, ns: no significativo

Tabla 3: Perfil de lípidos séricos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S).

	Perfil de lípidos séricos (mg/dl)		
	Triglicéridos	Colesterol	HDL-Col
Tratados con placebo	135 $\pm$ 3,32	238 $\pm$ 24,6	37,2 $\pm$ 1,92
Tratados con S-002-853 S (25 mg/kg)	115 $\pm$ 2,82	185 $\pm$ 51,4	49,5 $\pm$ 8,36
% de cambio en comparación con el control	-14,5	-21,8	+33,2

- denota disminución + denota aumento Los valores son Medios $\pm$ SE de 6 animales por grupo

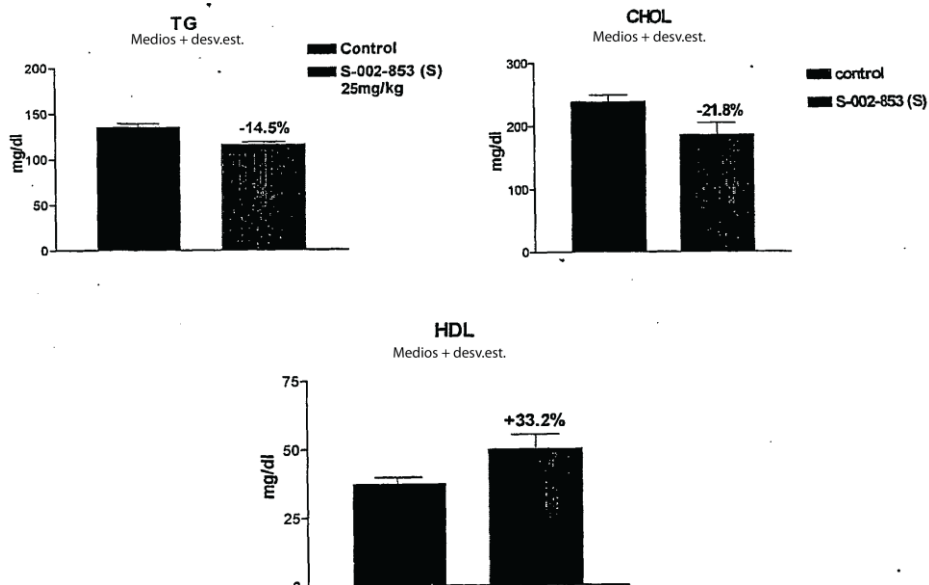


Fig. X: Perfil de lípidos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S).

Las tablas 4 y 6 presentan el perfil de actividad antihiper glucémica y antidislipidémica de los ratones db/db tratados con una dosis de 10 mg/kg de (S)-(+)-7-(3- *terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S). Aunque, a este nivel de dosificación, se vio que la disminución del perfil de glucosa en sangre tuvo lugar a partir del día 3 de tratamiento y se mantuvo hasta el final del estudio. No obstante, no era estadísticamente significativo ninguno de los días posteriores al tratamiento. En la Fig. XI se muestra la presentación gráfica del perfil de glucosa en sangre frente a los días de tratamiento a un nivel de dosificación de 10 mg/kg. En la tabla 5 y en la Fig. XII se presenta el efecto de los 10 días de tratamiento con el compuesto en la tolerancia a la glucosa de los ratones db/db. Se calculó que este efecto era de un 27,6 % aproximadamente pero no era estadísticamente significativo. En la tabla 6 y en la Fig. XIII se presenta el perfil de actividad antidislipidémica de la (S)-(+)-7-(3- *terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) en ratones db/db a un nivel de dosificación de 10 mg/kg. Se registró una disminución en el caso del colesterol y los triglicéridos séricos con el tratamiento con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) de aproximadamente un 16,3% y un 17,9%, respectivamente, a una dosis de 10 mg/kg. Se midió un aumento de +17,4 % en el nivel de HDL-colesterol respecto a los grupos de control. No obstante, esta diferencia era estadísticamente insignificante.

Tabla 4: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2- hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S).

	Glucosa en sangre (mM) a los distintos días post tratamiento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tratados con placebo	19,7 ±2,11	20,4 ±2,84	21,9 ±2,66	21,3 ±2,21	22,1 ±1,36	20,4 ±3,55	20,8 ±3,82	23,5 ±3,88	12,4 ±2,04
Tratados con S-002-853 (S) (10 mg/kg)	19,8 ±2,47	18,5 ±2,34	17,9 ±2,14	15,3 ±2,96	13,8 ±2,98	13,1 ±3,41	11,8 ±3,55	12,1 ±3,39	14,2 ±2,98
% de cambio en comparación con el control	-0,9	-9,60	-18,6	-26,8	-35,0	-40,7	-42,0	-42,2	-39,4
Significancia estadística	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

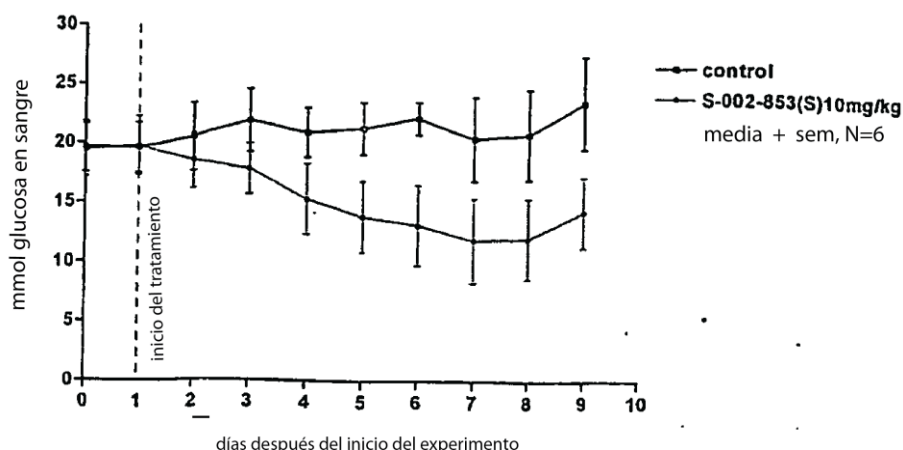


Fig. XI: Perfil de glucosa en sangre en ratones tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S). Los valores de glucosa en sangre son Medios $\pm$ SE de 4 animales por grupo. Significancia: ns: no significativo

Tabla 5: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2- hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) tras una carga oral de glucosa.

	Perfil de glucosa en sangre (mM) a distintos minutos tras una carga de glucosa					
	-30	0	30	60	90	120
Tratados con placebo	11,0 ±2,02	12,4 ±2,04	28,7 ±2,67	25,3 ±3,89	16,6 ±2,45	10,4 ±0,43
Tratados con S-002-853 (S) (10 mg/kg)	8,37 ±2,98	9,23 ±3,10	19,3 ±5,52	18,4 ±5,39	12,1 ±3,81	9,23 ±3,10
% de cambio en comparación con el control	-23,9	-25,7	-32,8	-27,2	-26,9	-11,7

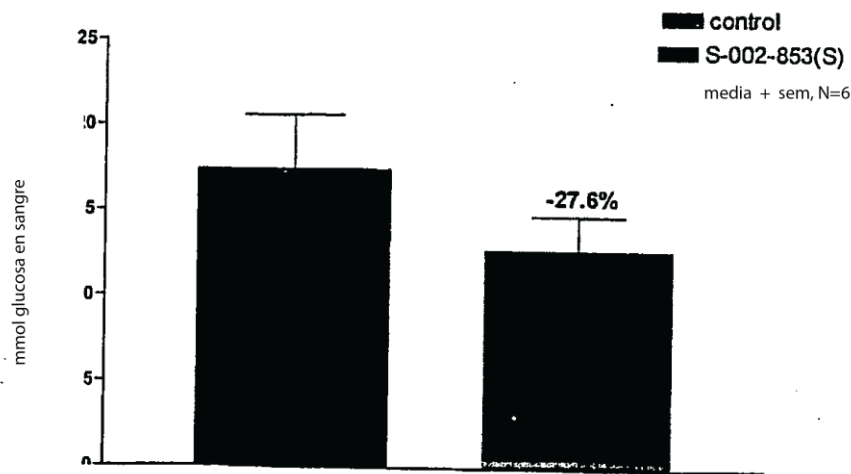


Fig. XII: Efecto en ratones db/db de la (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2- hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S) en un test de tolerancia oral a la glucosa. Los valores de glucosa en sangre son Medios ± SE de 4 animales por grupo.

Tabla 6: Perfil de lípidos séricos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S).

	Perfil de lípidos séricos (mg/dl)		
	Triglicéridos	Colesterol	HDL-Col
Tratados con placebo	134±12,7	104±8,27	56,0±2,45
Tratados con S-002-853 (S) (10 mg/kg)	110±4,08	87,5±3,00	66,4±2,87
% de cambio en comparación con el control	-17,9	-16,3	+17,4

- denota disminución + denota aumento. Los valores son Medios ± SE de 4 animales por grupo TG Medios + desv.est. COL

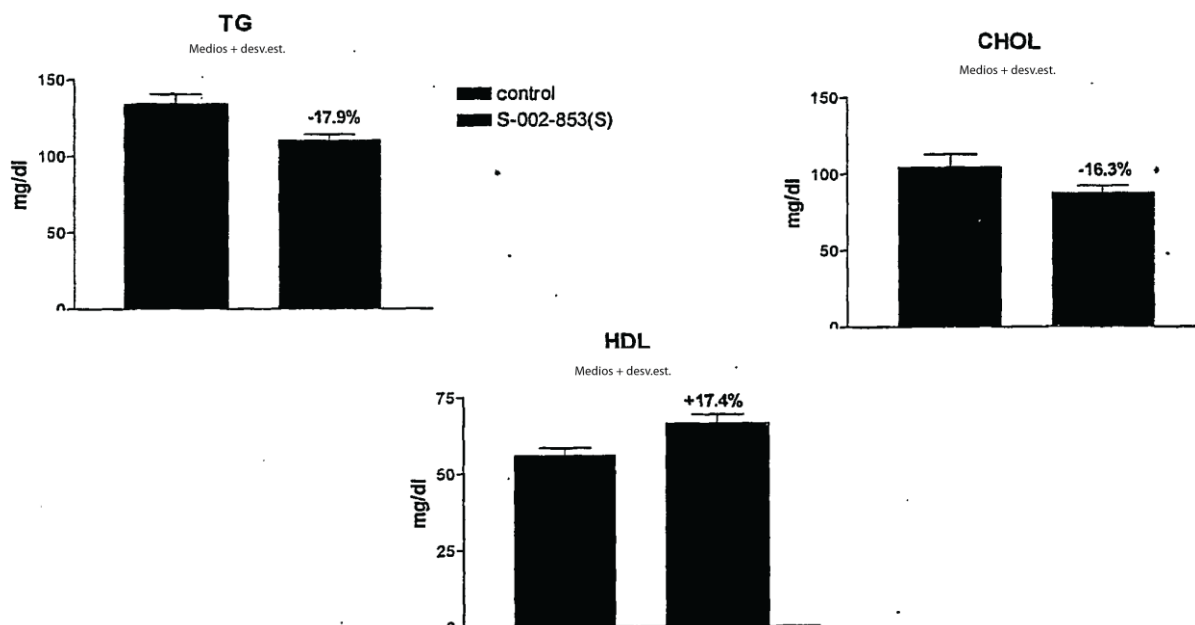


Fig. XIII: Perfil de lípidos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (7, S-002-853 S).

(R)-(-)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853 R):

Las tablas 7 y 9 presentan el perfil de actividad antihiper glucémica y antidislipidémica de los ratones db/db tratados con una dosis de 25 mg/kg de (4, S-002-853 R). A este nivel de dosificación, aunque el perfil de glucosa en sangre de los ratones tratados con S-002-853 (R) disminuyó a partir del día 3, permaneció igual durante el período de estudio. No obstante, se descubrió que no había ninguna diferencia significativa en el nivel de glucosa en sangre entre los grupos ninguno de los días. En la Fig. XIV se muestra la presentación gráfica del perfil de glucosa en sangre frente a los días de tratamiento a un nivel de dosificación de 25 mg/kg. También se descubrió que no existía diferencia alguna en la curva de tolerancia a la glucosa entre los ratones db/db tratados con placebo y tratados con S-002-853 (R). (Tabla 8; Figura XV). La tabla 9 presenta el perfil de lípidos de los grupos tratados con S-002-853 R y los tratados con placebo. Se descubrió que no se producía ninguna disminución significativa ni en el caso del colesterol ni en el los triglicéridos séricos con el tratamiento con (R)-(-)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853, R). También se descubrió que no existía ninguna diferencia significativa en los niveles de HDL-colesterol entre los grupos tratados con placebo y los grupos tratados con S-002-853 (R) (Tabla 9, Fig. XVI).

Tabla 7: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(3-*terc*-butilamino-2- hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853 R).

	Glucosa en sangre (mM) a los distintos días post tratamiento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tratados con placebo	11,8 ±3,31	12,2 ±3,56	15,1 ±5,26	17,5 ±2,08	15,0 ±0,45	15,9 ±0,46	18,1 ±1,62	19,7 ±0,75	20,8 ±2,06
Tratados con S-002-853 (R) (25 mg/kg)	12,0 ±2,52	12,4 ±2,65	10,3 ±1,33	13,3 ±4,61	12,3 ±4,32	12,1 ±3,82	14,5 ±5,49	13,4 ±4,54	13,5 ±4,66
% de cambio en comparación con el control	+1,1	-31,9	-24,1	-18,1	-24,0	-19,8	-31,9	-35,4	-38,3
Significancia estadística	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

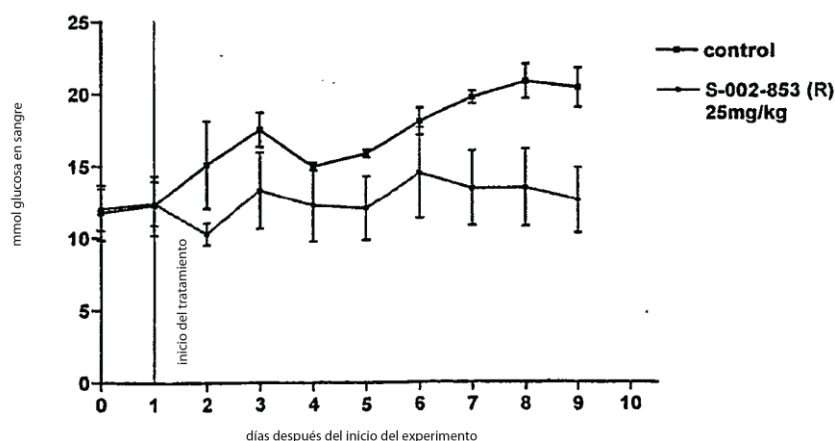


Fig. XIV: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(3-*tert*-butilamino-2- hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853 R) en distintos días.

Tabla 8: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(3-*tert*-butilamino-2- hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853 R) tras una carga oral de glucosa.

	Perfil de glucosa en sangre (mM) a distintos minutos tras una carga de glucosa					
	-30	0	30	60	90	120
Tratados con placebo	16,5 ±8,08	21,0 ±5,81	33,1 ±0,45	25,9 ±0,31	21,0 ±2,68	18,4 ±2,39
Tratados con S-002-853 (R) (25 mg/kg)	13,6 ±0,46	20,3 ±4,74	34,3 ±16,9	25,9 ±9,75	24,5 ±9,13	23,0 ±10,0
% de cambio en comparación con el control	-17,4	-3,30	+3,70	0,00	+17,0	+24,9

Los valores de glucosa en sangre son Medios $\pm$ SE de 3 animales por grupo. Significancia: ns: no significativo

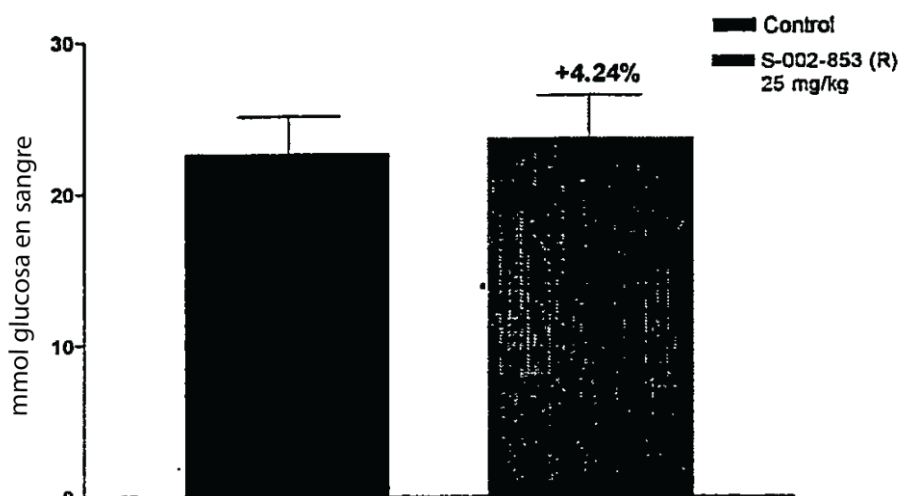


Fig. XV: Efecto en ratones db/db de la (R)-(-)-7-(3-*tert*-butilamino-2- hidroxipropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853 R) en un test de tolerancia oral a la glucosa. Los valores de glucosa en sangre son Medios $\pm$ SE de 3 animales por grupo.

Tabla 9: Perfil de lípidos séricos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853 R).

	Perfil de lípidos séricos (mg/dl)		
	Triglicéridos	Colesterol	HDL-Col
Tratados con placebo	147,0±30,6	150,0±4,51	53,6±4,93
Tratados con S-002-853 (R) (25 mg/kg)	132,0±11,5	144,0±7,37	58,0±6,24
% de cambio en comparación con el control	-9,72	-3,72	+8,06

Los valores son Medios ± SE de 3 animales por grupo.

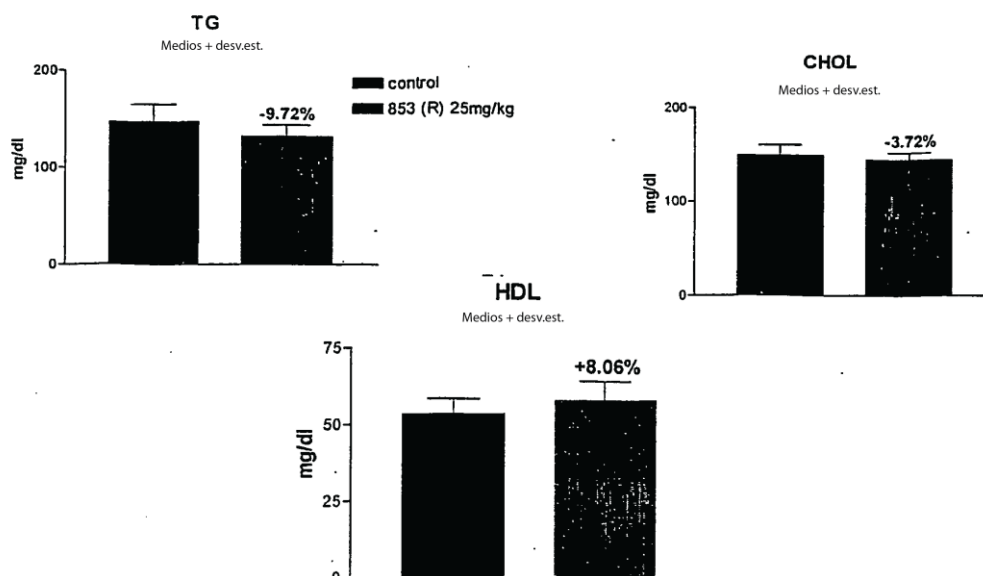


Fig. XVI: Perfil de lípidos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(3-*terc*-butilamino-2-hidroxiopropoxi)-3',5'-dibenciloxiflavona (4, S-002-853 R). Los valores son Medios ± SE de 3 animales por grupo.

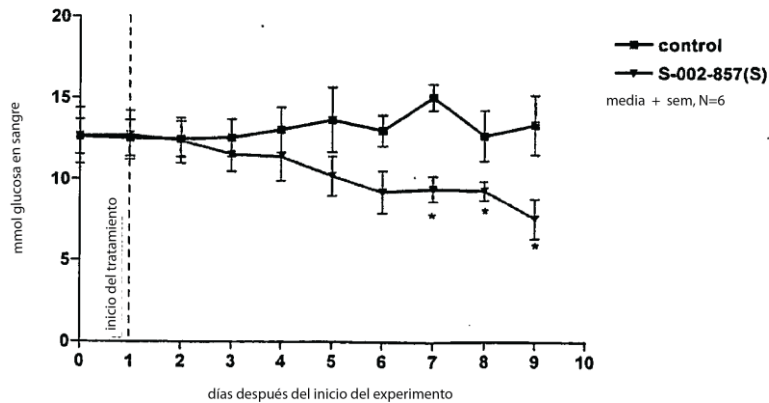
(S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-*isopropilaminopropoxi*)-3',5'-dihydroxiflavona (11, S-002-857S):

La tabla 10 presenta el perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con S-002-857 S. Resulta evidente, a la vista de los resultados, que el tratamiento con S-002-857 (S) redujo el perfil de glucosa en sangre de los ratones db/db. Resulta evidente, a la vista de los resultados, que el tratamiento con 25,0 mg/kg de S-002-857 (S) redujo el perfil de glucosa en sangre a partir del 4º día y continuó hasta el final. Se calculó que la disminución media del nivel de glucosa en sangre era de un 20 % aproximadamente en este caso en los ratones tratados con S-002-857 (S). La disminución del nivel de glucosa en sangre fue estadísticamente significativa a partir de los días 7 a 9 en los que se observó un efecto de un 37,4, un 36,8 y un 43,3 % aproximadamente. La Fig. XVII es la presentación gráfica del perfil de glucosa en sangre frente a los días de tratamiento a un nivel de dosificación de 25 mg/kg. La tabla 11 y la Figura XVIII presentan las curvas de tolerancia oral a la glucosa de ratones db/db tratados con placebo y tratados con S-002-857 (S). Fue evidente una mejoría general del 27 % en el caso de los tratados con 25,0 mg/kg de S-002-857 (S) en comparación con el grupo tratado con placebo.

La tabla 12 y la Figura XIX presentan el perfil de lípidos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con S-002-857 S. Resulta evidente, a la vista de los resultados, que en los ratones tratados con 25,0 mg/kg de S-002-857 (S) había disminuido el perfil de colesterol y triglicéridos séricos en comparación con los ratones db/db tratados con placebo, si bien estos perfiles no fueron estadísticamente significativos. No obstante, en los ratones tratados con S-002-857 (S) se observó un aumento del 17,3 % en el nivel de HDL-colesterol en comparación con los controles tratados con placebo.

Tabla 10: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-3-flavona (11, S-002-857 S).

	Glucosa en sangre (mM) a los distintos días post tratamiento								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tratados con placebo	12,5 ±1,94	12,4 ±1,90	12,5 ±1,97'	13,0 ±2,40	13,6 ±3,43	13,0 ±1,65	15,0 ±1,39	14,7 ±2,69	13,3 ±3,18
Tratados con S-002-857 (S) (25 mg/kg)	12,7 ±2,61	12,3 ±2,40	11,5 ±1,80	11,3 ±2,54	10,1 ±2,08	9,19 ±2,25	9,41 ±1,37	9,28 ±1,02	7,56 ±2,13
% de cambio en comparación con el control	-1,60	-0,80	-8,13	-12,7	-25,3	-29,1	-37,4	-36,8	-43,3
Significancia estadística	ns	ns	ns	ns	ns	ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05



5 Fig. XVII: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-3-flavona (11, S-002-857 S) en distintos días. Los valores de glucosa en sangre son Medios ± SE de 3 animales por grupo Significancia * p<0,05

Tabla 11: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-3-flavona (11, S-002-857 S) tras una carga oral de glucosa.

	Glucosa en sangre (mM) a distintos minutos tras una carga de glucosa					
	-30	0	30	60	90	120
Tratados con placebo	12,9 ±2,70	17,6 ±5,59	33,2 ±0,19	27,2 ±1,54	22,3 ±0,55	18,7 ±1,64
Tratados con S-002-857 (S) (25 mg/kg)	8,76 ±1,90	13,8 ±2,18	25,3 ±0,58	19,8 ±1,20	15,2 ±0,48	11,6 ±0,58
% de cambio en comparación con el control	-32,2	-21,1	-23,7	-26,9	-31,5	-37,6

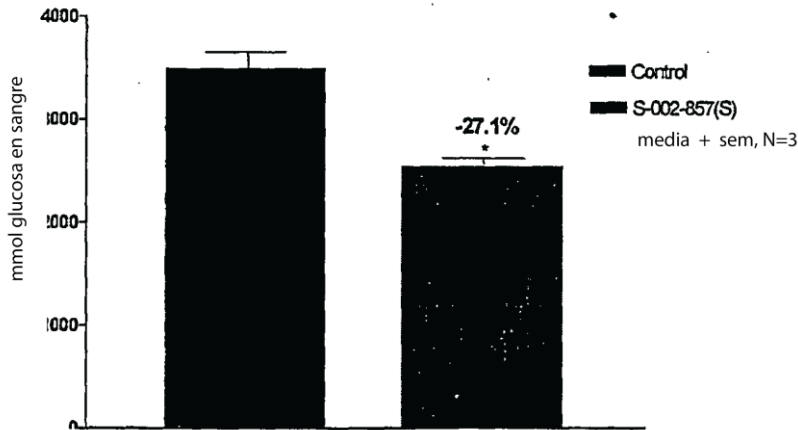


Fig. XVIII: Efecto de la (S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (11, S-002-857 S) en ratones db/db en un test de tolerancia oral a la glucosa. Los valores de glucosa en sangre son Medios $\pm$ SE de 3 animales por grupo. Significancia: * $p < 0,05$

- 5 Tabla 12: Perfil de lípidos séricos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (11, S-002-857 S).

	Perfil de lípidos séricos (mg/dl)		
	Triglicéridos	Colesterol	HDL-Col
Tratados con placebo	133 $\pm$ 7,00	171 $\pm$ 4,73	56,0 $\pm$ 1,00
Tratados con S-002-857 (S) (25 mg/kg)	124 $\pm$ 3,51	152 $\pm$ 7,00	65,0 $\pm$ 6,03
% de cambio en comparación con el control	-6,54	-11,2	+17,3

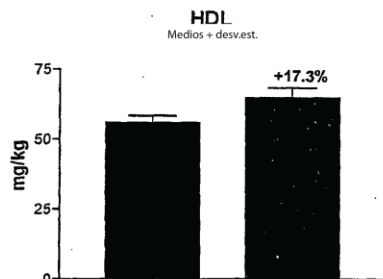
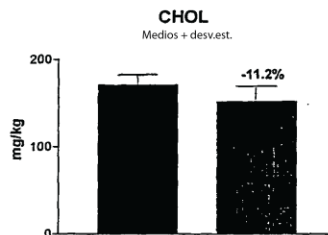
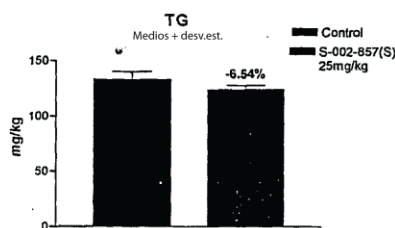


Fig. XIX: Perfil de lípidos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (S)-(+)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-3-flavona (11, S-002-857 S). Los valores son Medios $\pm$ SE de 3 animales por grupo.

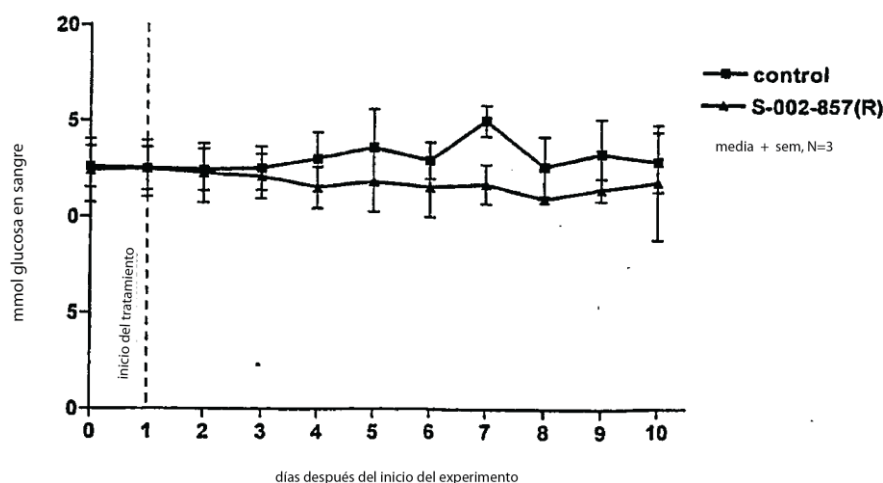
5 (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-3-flavona (9, S002-857 R):

La tabla 13 presenta el perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con 25,0 mg/kg de S-002-857 R. Se observó una disminución marginal en el perfil de glucosa en sangre a partir del 4º día en los ratones db/db tratados con S-002-857 R en comparación con los tratados con placebo, que permaneció más o menos igual hasta el final del estudio. La Figura XX es la presentación gráfica del perfil de glucosa en sangre frente a los días de tratamiento con un vehículo y con un nivel de dosificación de 25 mg/kg de S-002-857 R, respectivamente. No se observó ningún efecto significativo en el perfil de glucosa en sangre ninguno de los días posteriores al tratamiento. En la tabla 14 y en la Fig. XXI se presenta el efecto de la S-002-857 (R) en la tolerancia a la glucosa de los ratones db/db. Aunque se observó una ligera mejora en cuanto a la tolerancia a la glucosa en los ratones db/db tratados con 25,0 mg/kg de S-002-857 R, no se consideró que esta fuera estadísticamente significativa.

La tabla 15 y la Figura XXII presentan el perfil de lípidos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con S-002-857 R. Se descubrió que no existe ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de colesterol, triglicéridos y HDL-colesterol séricos de los ratones db/db tratados con placebo y los tratados con 25,0 mg/kg de S-002-857 R.

20 Tabla 13: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi-3-flavona (9, S-002-857 R) en comparación con los de control tratados con placebo.

•	Glucosa en sangre (mM) a los distintos días post tratamiento									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tratados con placebo	12,5 $\pm 1,94$	12,4 $\pm 1,90$	12,5 $\pm 1,97$	13,0 $\pm 2,40$	13,6 $\pm 3,43$	13,0 $\pm 1,65$	15,0 $\pm 1,39$	12,7 $\pm 2,69$	13,3 $\pm 3,18$	12,9 $\pm 2,70$
Tratados con S-002-857 R (25 mg/kg)	12,5 $\pm 2,55$	12,3 $\pm 2,67$	12,1 $\pm 2,02$	11,5 $\pm 1,86$	11,9 $\pm 2,74$	11,6 $\pm 2,73$	11,7 $\pm 1,78$	11,0 $\pm 0,35$	11,5 $\pm 1,00$	11,9 $\pm 5,21$
% de cambio en comparación con el control	0,0	-1,25	-3,28	-11,5	-13,1	-10,7	-22,0	-13,4	-14,0	-8,30
Significancia estadística	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

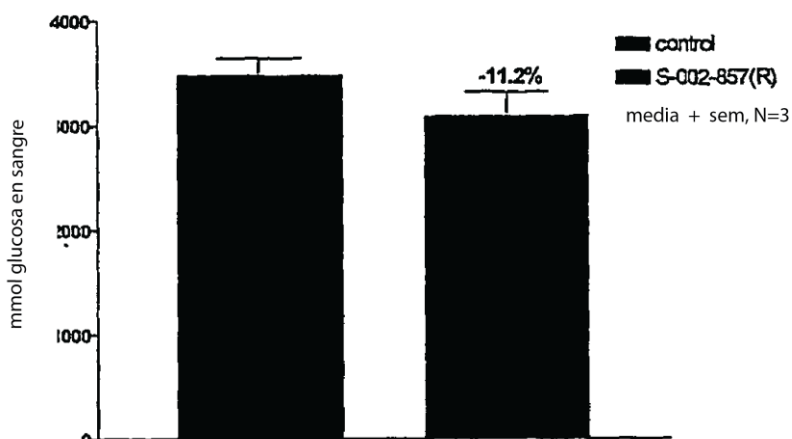


25 Fig. XX: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y con (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-

isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi flavona (9, S-002-857 R) a lo largo de varios días. Los valores de glucosa en sangre son Medios $\pm$ SE de 3 animales por grupo.

Tabla 14: Perfil de glucosa en sangre en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi flavona (9, S-002-857 R) tras una carga oral de glucosa.

	Perfil de glucosa en sangre (mM) a distintos minutos tras una carga de glucosa					
	-30	0	30	60	90	120
Tratados con placebo	12,9 ±2,70	17,6 ±5,59	33,2 ±0,19	27,2 ±1,54	22,3 ±0,55	18,7 ±1,64
Tratados con S-002-857 (R) (25 mg/kg)	11,8 ±5,21	16,3 ±3,91	27,6 ±1,53	24,4 ±2,99	20,6 ±2,08	16,0 ±1,73
% de cambio en comparación con el control	-8,31	-7,05	-16,7	-10,0	-7,39	-14,3



5

Fig. XXI: Efecto de la (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi flavona (9, S-002-857 R) en ratones db/db en un test de tolerancia oral a la glucosa. Los valores de glucosa en sangre son Medios $\pm$ SE de 3 animales por grupo.

10 Tabla 15: Perfil de lípidos séricos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihidroxi flavona (9, S-002-857 R).

	Perfil de lípidos séricos (mg/dl)		
	Triglicéridos	Colesterol	HDL-Col
Tratados con placebo	133±7,00	171±4,73	56,0±1,00
Tratados con S-002-857 (R) (25 mg/kg)	130±3,06	160±6,66	59,0±2,65
% de cambio en comparación con el control	-1,72	-6,18	+5,35

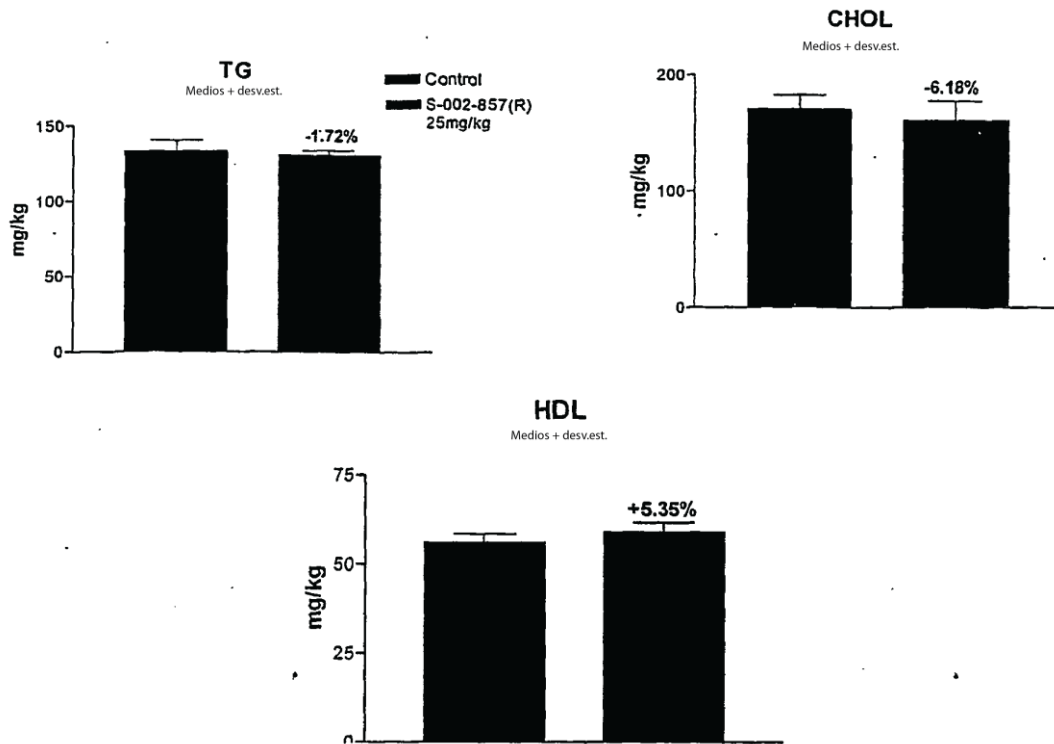


Fig. XXII: Perfil de lípidos en ratones db/db tratados con placebo y tratados con (R)-(-)-7-(2-hidroxi-3-isopropilaminopropoxi)-3',5'-dihydroxiflavona (9, S-002-857 R). Los valores son Medios $\pm$ SE de 3 animales por grupo.

Las tablas 16 y 17 presentan los perfiles comparativos antihiper glucémicos y antihiperlipidémicos de una mezcla racémica y de los dos isómeros de la S-002-853 en ratones db/db. Resulta evidente, a la vista de los datos, que el S-isómero tiene un marcado efecto antihiper glucémico y antihiperlipidémico en comparación con la mezcla racémica a una dosis de 25,0 mg/kg. El R-isómero tiene unos efectos antihiper glucémicos o antihiperlipidémicos insignificantes.

Tabla 16. Actividad antihiperlipidémica comparativa de la S-002 853 (S), S-002 853 (R) con S-002-853 (mezcla racémica)

Dosis del test (mg/kg)	S-002-853 (Racémica)			S-002-853 (S)			S-002-853 (R)		
	TG	T-Col	HDL-C	TG	T-Col	HDL-C	TG	T-Col	HDL-C
10	13,9*	824	+3,03 ^{ns}	17,9*	163*	+17,4 ^{ns}	-	-	-
25	-10,1*	-4,47	+16,2 ^{ns}	14,5**	27,8*	+332*	-9,72 ^{ns}	-3,72 ^m	+8,06 ^{re}

Significancia * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ ns: no significativo

Tabla 17. Actividad antihiper glucémica comparativa de la S-002 853 (S), S-002 853 (R) con S-002-853 (mezcla racémica)

Dosis del test (mg/kg)	S-002-853 (Racémica)		S-002-853 (S)		S-002-853 (R)	
	Disminución media	Día 10 (TTOG)	Media Disminución	Día 10 (TTG)	Media Disminución	Día 10 (TTOG)

ES 2 443 041 T3

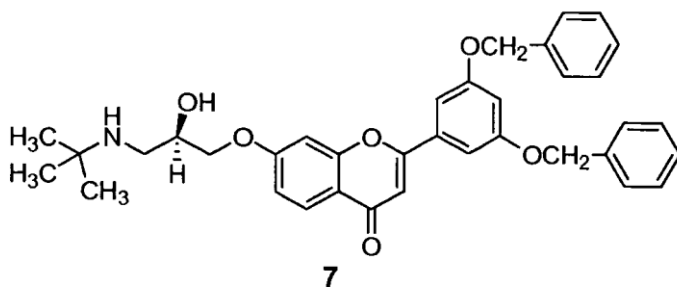
10	44,6* (día 6)	15,4*	422* (día 8)	27,6*	NR	*
25	57,7** (día 7)	35,8*	61,1** (día 6)	45,3**	38,3 ^{ns}	+424 ^{ns}

NR: No realizado, Significancia *p<0,05 **p<0,01 ns: no significativo

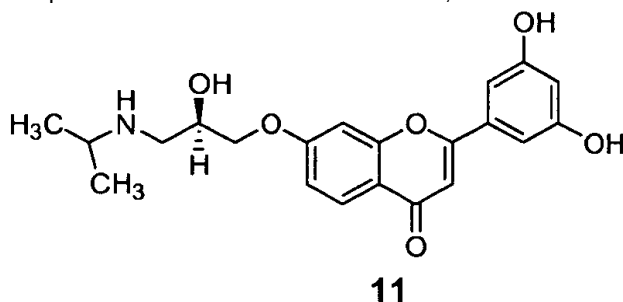
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto ópticamente activo seleccionado del grupo que consiste en:
- S-(+)-7-(3-terc-butilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (7);
 - S-(+)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dibenciloxi-flavona (10); o
 - S-(+)-7-(3-iso-propilamino-2-hidroxi-propoxi)-3',5'-dihidroxi-flavona (11).

2. Un compuesto conforme a la reivindicación 1, en donde el compuesto es:



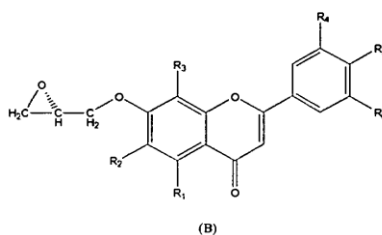
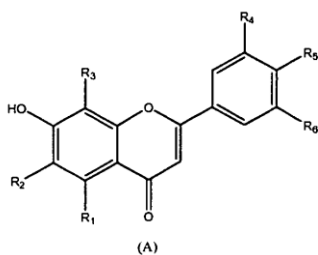
3. Un compuesto conforme a la reivindicación 1, en donde el compuesto es:



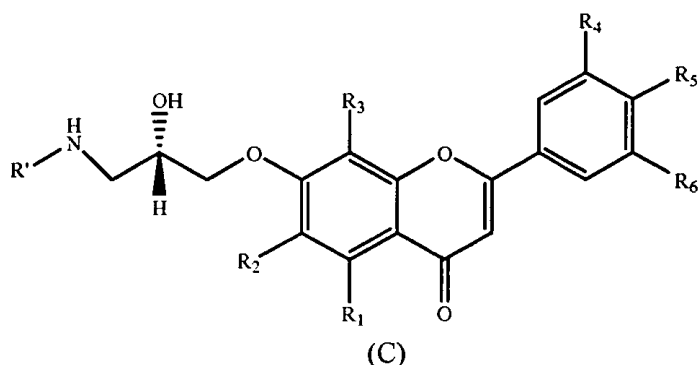
4. Un compuesto conforme a la reivindicación 1, en donde la sal del compuesto se selecciona del grupo que consiste en clorhidrato, succinatos, fumaratos y tartratos.

5. Un compuesto conforme a la reivindicación 1, en donde el compuesto presenta una actividad antidiabética y de reducción de lípidos a una dosis que oscila entre 10-250 mg/kg de peso corporal.

6. Un proceso para la preparación de un compuesto conforme a la reivindicación 1, que comprende los pasos de:
- hacer reaccionar hidroxiflavona sustituida de fórmula general A en donde R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, metilo o isopentenilo; en donde R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan del grupo que consiste en O-alkilo, O-bencilo, hidroxi O-sustituido, fenilo o una combinación de los mismos, con S *epi*-clorhidrina ópticamente activa seguido de una reacción con una base para obtener las 2,3-epoxi-propoxi-flavonas invertidas del compuesto de fórmula B,

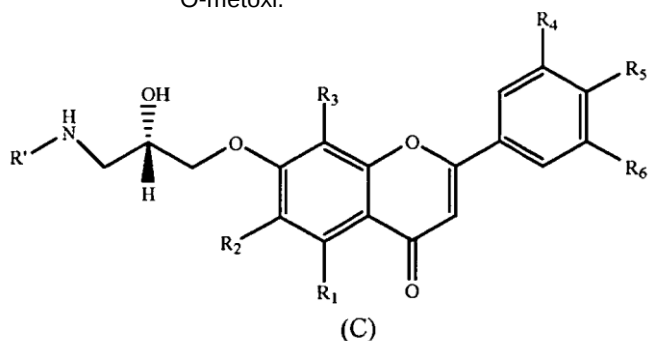


- calentar las 2,3-epoxi-propoxi-flavonas de la fórmula B obtenidas en el paso (i) bajo reflujo, con una amina en un alcohol para obtener propanolaminas de fórmula C en donde R se selecciona de un grupo que consiste en t-butilamina, n-butilamina, iso-butilamina, iso-propilamina, 4-fenil-piperazin-1-ilamina, 4-(2-metoxifenil)-piperazin-1-ilamina, y 3,4-dimetoxifenetilamina,



5

(iii) someter a la propanolamina obtenida en el paso (ii) a una desbencilación a través de un proceso de hidrogenación catalítica para obtener las propanolaminas derivadas de hidroxiflavonas correspondientes de fórmula general C en donde R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan del grupo de H, OH y O-metoxi.



10

(iv) convertir el compuesto de formula C en sales mediante un método conocido, seleccionándose preferentemente la base del grupo que consiste en hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de benciltriethylamonio.

7. Un proceso conforme a la reivindicación 6, en donde la amina utilizada se selecciona del grupo que consiste en alquilaminas de un grupo de alquilo en parte cíclico y en parte acíclico.

15

8. Un proceso conforme a la reivindicación 6, en donde el alcohol utilizado se selecciona del grupo que consiste en etanol y propanol.

9. Un proceso conforme a la reivindicación 6, en donde la desbencilación se lleva a cabo utilizando Pd-C como catalizador bajo una presión del hidrógeno de entre 276-690 Kpa (40-100 psi).

10. Un proceso conforme a la reivindicación 6, en donde la sal de la fórmula general se selecciona del grupo que consiste en clorhidrato, fumaratos y tartratos.

20

11. Un compuesto conforme a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método de tratamiento de la diabetes tipo 2 y la dislipidemia en mamíferos, cuyo método comprende el paso de administrar una cantidad farmacéuticamente aceptable del compuesto, opcionalmente con los excipientes farmacéuticamente aceptables.

12. El compuesto conforme a la reivindicación 11, en donde la cantidad farmacéuticamente efectiva del compuesto se encuentra en el rango de 10-100 mg/kg de peso corporal.

25

13. El método conforme a la reivindicación 11, en donde el valor ED_{50} del compuesto se encuentra en el rango de 17,84 a 32,93 mg/kg.