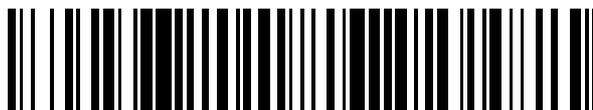


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 528 045**

51 Int. Cl.:

C07J 51/00 (2006.01)

A61K 31/665 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.05.2011 E 11777178 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.11.2014 EP 2567966**

54 Título: **Nuevo derivado de síntesis de la ecdisterona, procedimiento de preparación y utilización del mismo**

30 Prioridad:

07.05.2010 CN 201010168580

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

03.02.2015

73 Titular/es:

**CHONGQING ZEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.
(100.0%)
70 Keyuan 4 Street, Jiulongpo District
Chongqing 400039, CN**

72 Inventor/es:

**XIA, YONGPENG;
WANG, XIAOLIN;
QIN, YONG;
QIU, ZONGYIN;
XU, LIRONG;
ZHANG, MIN;
ZHANG, DAN;
DING, BAO y
CHEN, QIU**

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Luis Alfonso

ES 2 528 045 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

Nuevo derivado de síntesis de la ecdisterona, procedimiento de preparación y utilización del mismo

- 5 La presente invención se refiere a química de medicina natural, y en particular, a un nuevo derivado de síntesis de la ecdisterona, al procedimiento de preparación y a la utilización del mismo.

Antecedentes de la técnica relacionada

- 10 La ecdisterona es el nombre global de un tipo de productos naturales que fueron descubiertos por primera vez en los insectos. Las ecdisteronas tienen actividad de muda, así como el efecto de inducir el crecimiento celular. Después de los años 60, se descubrió que las ecdisteronas también están presentes en las plantas. Su distribución en las plantas es mayor y más amplia que en los animales. Las ecdisteronas están ampliamente presentes en plantas, tales como raíz de *Achyranthes bidentata*, hoja de la mora, *rhaponticum uniflorum* y similares. Las cantidades de ecdisteronas en el cuerpo de los insectos son extremadamente bajas. Por lo tanto, actualmente, las ecdisteronas de plantas son la principal fuente de ecdisteronas comerciales. Las investigaciones muestran que las ecdisteronas poseen una variedad de acciones farmacológicas, tales como la inducción de la síntesis de ácido ribonucleico y proteína, la afectación del sacarometabolismo, la inducción del metabolismo de los lípidos, la inmunorregulación, la afectación del sistema nervioso central, la antioxidación, la activación de la circulación sanguínea para disipar la estasis sanguínea y similares.

- 20 La patente china CN 1280010A, publicada en 17 de enero 2001, de Chongren Yang y otros, da a conocer un medicamento oral para el tratamiento de la diabetes que comprende β -ecdisona y acetato de 2- β -ecdisona como principios activos medicinales en una proporción en peso de 50-95% de β -ecdisona con respecto a 5-50% de acetato de 2- β -ecdisona.

Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. Volumen 296, páginas 433-E439 (2009) da a conocer la 20-hidroxi-ecdisterona y sus efectos hipoglucémicos.

- 30 La patente china CN 1557324A, publicada el 29 de diciembre de 2004, de Qiu Chen y otros da a conocer la utilización de la ecdisterona en la preparación de un medicamento para tratar la resistencia a la insulina.

- 35 "The effect of ecdysterone on glucose consumption of HepG2 cells" (El efecto de la ecdisterona sobre el consumo de glucosa de las células HepG2) en el CHINESE PHARMACOLOGICAL BULLETIN volumen 11, 2005, Qiu Chen y otros, da a conocer que la ecdisterona en un intervalo de concentraciones de $1 \times 10^{-6} \sim 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ aumenta el consumo de glucosa de las células HepG2 (en un 44% ~ 77%); disminuye el efecto de la ecdisterona en la reducción de la glucosa a medida que aumenta la concentración de glucosa en la solución de cultivo; y la insulina obviamente no realiza la acción de la ecdisterona para disminuir la glucosa. La ecdisterona no presenta la acción de estimular la secreción de insulina de las células β -TC3, lo que sugiere que la ecdisterona puede desarrollar una función no dependiente de insulina de reducción de la glucosa a través de los hepatocitos, pero no puede estimular la secreción de insulina.

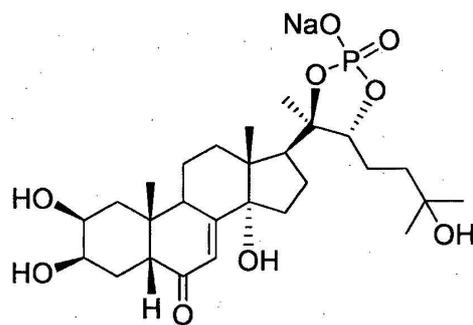
- 45 "The effect of ecdysterone on protein expression of insulin receptor in insulin resistant HepG2 cells" (El efecto de la ecdisterona sobre la expresión de proteínas del receptor de insulina en células HepG2 resistentes a insulina), SHANDONG MEDICAL JOURNAL, volumen 04, 2008, Qiu Chen y otros, da a conocer que $1 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ de ecdisterona aumenta de manera significativa la expresión de la proteína InsR en células HepG2 IR, lo que demuestra que la sensibilización a la insulina por la ecdisterona puede estar asociada con el aumento de la expresión de la proteína InsR, una molécula de transducción de señales de la insulina.

- 50 "The effect of ecdysterone on protein expression of PI3K, Glut-4 in insulin resistant HepG2 cells" (El efecto de la ecdisterona sobre la expresión de proteínas de PI3K, Glut-4 en células HepG2 resistentes a insulina), JIANGSU MEDICAL JOURNAL, volumen 3, 2009, Chen y otros, da a conocer que ecdisterona $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ aumenta la expresión de las proteínas PI3K y GLUT-4 en células HepG2 resistentes a insulina ($P < 0,05$), lo que demuestra que la sensibilización a la insulina por la ecdisterona puede estar asociada con el aumento de expresión de las proteínas PI3K y GLUT-4 que son moléculas de transducción de señales de la insulina.

- 60 "A proteomic study on the insulin resistant HepG2 cell treated by ecdysterone" (Un estudio proteómico sobre células HepG2 resistentes a insulina tratadas por ecdisterona), CHINESE PHARMACOLOGICAL BULLETIN volumen 12, 2009, Min Song y otros, da a conocer el efecto de la ecdisterona sobre el consumo de glucosa en células modelo resistentes a insulina, demostrando que las dianas para la sensibilización a la insulina por la ecdisterona se refieren a una variedad de proteínas y quinasas relacionadas con resistencia a la insulina.

Además, ecdibase.org da a conocer derivados de fosfato de ecdisterona separados tal como se indica a continuación:

- 65 1. 26-Hidroxiecdisterona-2-fosfato (THOMPSON, J.A. y otros, (1987) Arch. Insect Biochem. Physiol. 4, 183-190);

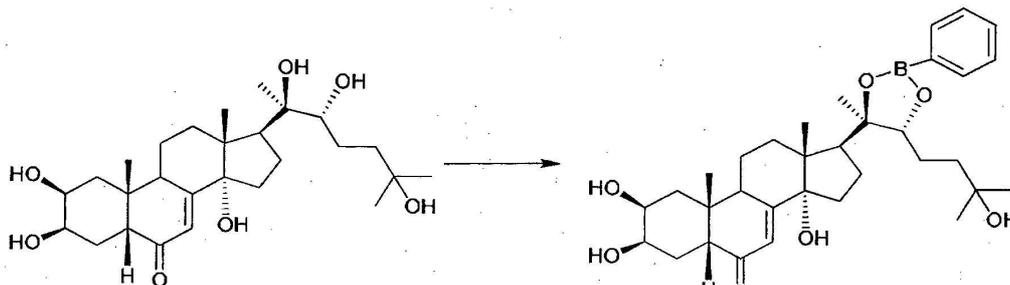


I'

En la solución técnica dada a conocer por la presente invención, los solvatos se seleccionan entre solvatos o hidratos orgánicos, en los que los solvatos orgánicos se seleccionan entre alcohol C1-C4, tal como metanol, etanol, propanol, isopropanol o butanol, o similares; o dimetilformamida; o dimetilsulfóxido, o similares.

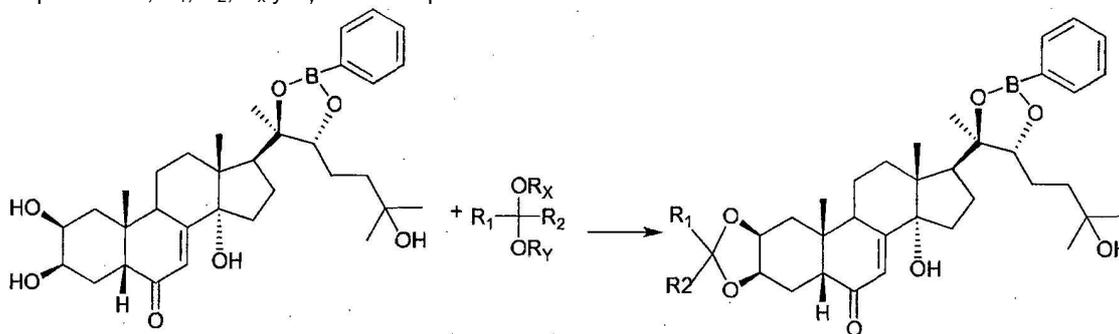
En otro aspecto, la presente invención da a conocer un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula I, tal como se ha descrito anteriormente, o las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende las siguientes etapas:

(1) utilizar 20-hidroxi-β-ecdisterona como material de partida para reaccionar con ácido fenilborónico en presencia de un disolvente orgánico, para producir un compuesto de fórmula II:



II

(2) hacer reaccionar el compuesto de fórmula II con un compuesto de fórmula III en condiciones ácidas para producir un compuesto de fórmula IV; en el que, R₁ y R₂ en los compuestos de fórmulas III y IV son cada uno, de manera independiente, hidrógeno, alquilo C1-C4 o fenilo, R_x y R_y en el compuesto de fórmula III son cada uno, de manera independiente, alquilo C1-C4, fenilo, o R_xO- y R_yO-, junto con el carbono al que están unidos, forman carbonilo, de manera preferente, R₁, R₂, R_x y R_y en el compuesto de fórmula III son de manera simultánea metilo:

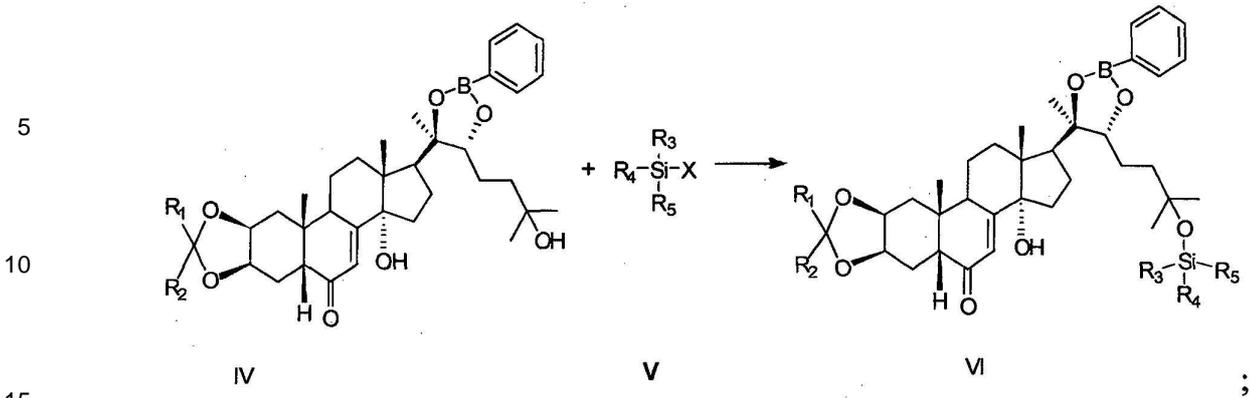


II

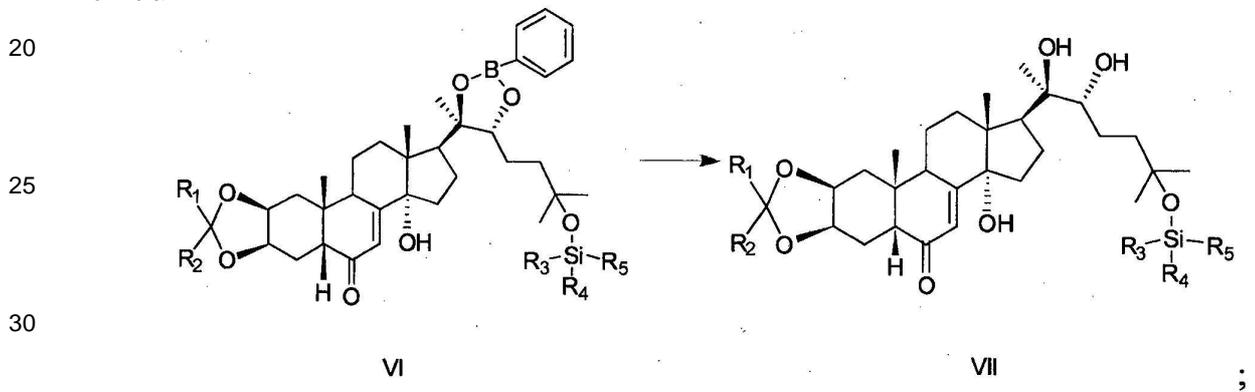
III

IV

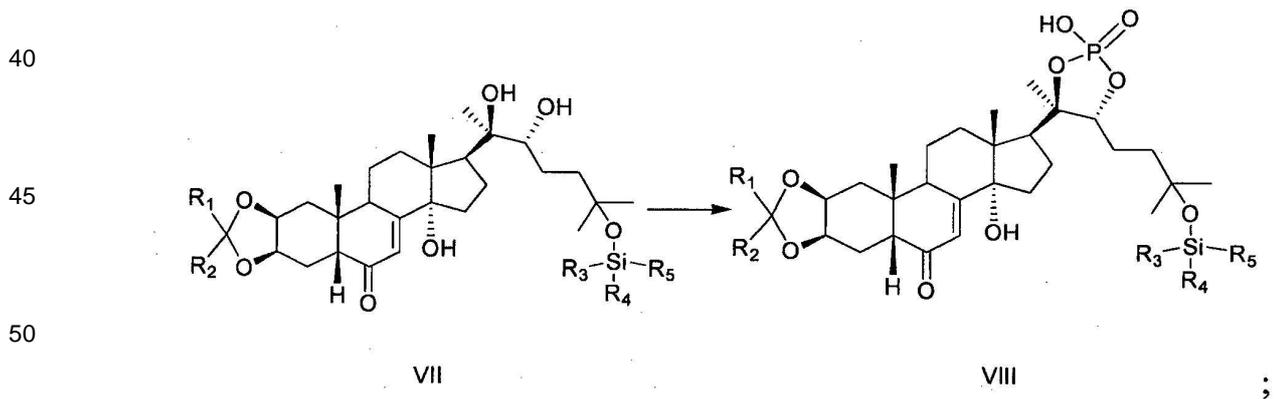
(3) hacer reaccionar el compuesto de fórmula IV con un compuesto de fórmula V para producir un compuesto de fórmula VI, en el que R₃, R₄ y R₅ en la fórmula V se seleccionan cada uno, de manera independiente, entre alquilo C1-C4, de manera preferente, R₃, R₄ y R₅ son de manera simultánea metilo o etilo; X es halógeno y, de manera preferente, X es cloro; las definiciones de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ en la fórmula VI son las mismas que en la fórmula IV y la fórmula V:



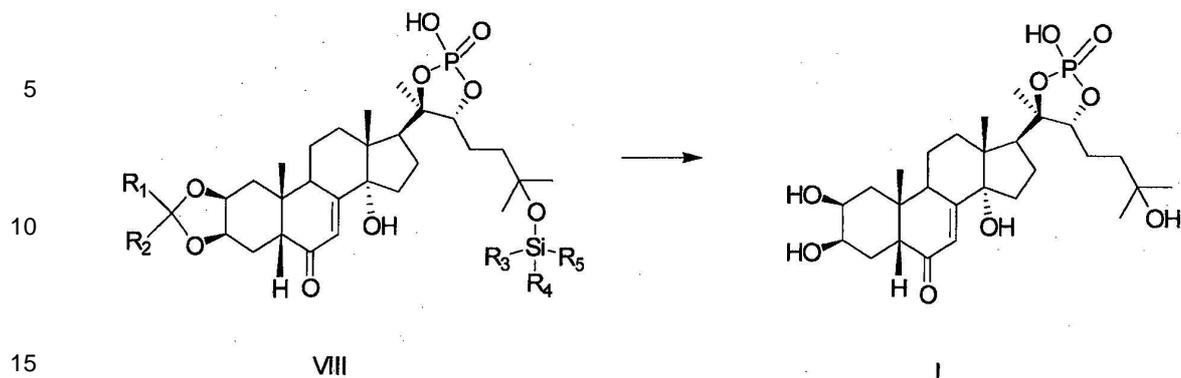
(4) desproteger el compuesto de fórmula VI en presencia de una base y un peróxido para producir un compuesto de fórmula VII; siendo las definiciones de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ en la fórmula VII las mismas que en la fórmula IV y la fórmula V:



(5) hacer reaccionar el compuesto de fórmula VII con POCl₃ para producir el compuesto de fórmula VIII, siendo las definiciones de R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ en la fórmula VIII las mismas que en la fórmula IV y la fórmula V:

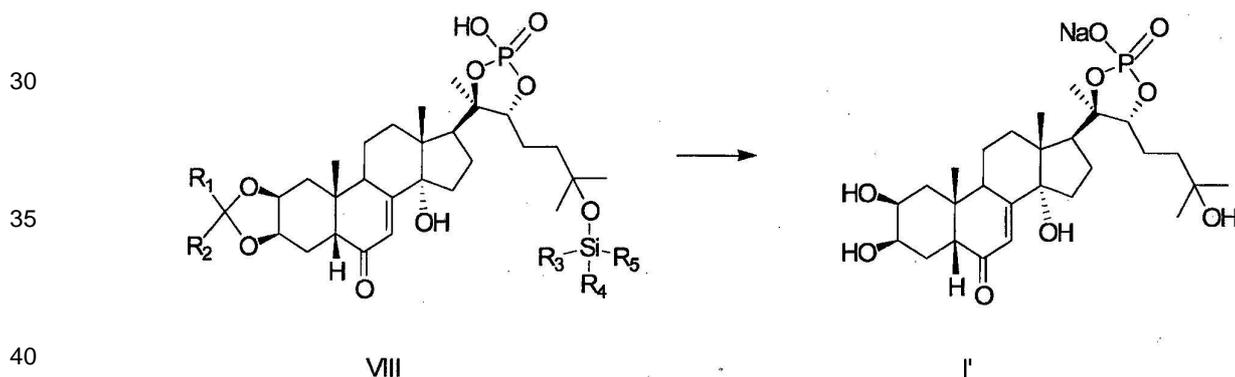


(6) desproteger el compuesto de fórmula VIII en condiciones ácidas para producir el compuesto de fórmula I:



20 En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, de manera opcional, después de obtener el compuesto de fórmula I en la etapa (6), se utiliza un procedimiento de salificación convencional en la técnica para producir la sal del compuesto de fórmula I.

25 En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, de manera opcional, en la etapa (6) se desprotege el compuesto de fórmula VIII en condiciones ácidas y, a continuación, se utiliza un procedimiento de salificación convencional para producir la sal del compuesto de fórmula I. Por ejemplo, el compuesto de fórmula VIII se desprotegió en condiciones ácidas y, a continuación, se añadió NaHCO_3 para reaccionar produciendo la sal sódica del compuesto de fórmula I:



45 En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, en la etapa (1), el disolvente orgánico se selecciona entre dimetilacetamida, dimetilformamida, tetrahidrofurano o dimetilsulfóxido, o similares; la temperatura de reacción es de $0 \sim 50^\circ\text{C}$, y de manera más preferente, la reacción tiene lugar a temperatura ambiente.

50 En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, en la etapa (2), las condiciones ácidas significan en presencia de un catalizador ácido. El catalizador ácido se selecciona entre ácido para-toluenosulfónico, para-toluenosulfonato de piridinio o cloruro estannoso, o similares.

55 En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, la reacción en la etapa (3) se lleva a cabo en presencia de una base orgánica y un activador. La base orgánica se selecciona entre imidazol, N-metilmorfolina, piridina o trietilamina, o similares. El activador se selecciona entre DMAP (4-dimetilaminopiridina) o dimetilformamida, o similares.

60 En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, en la etapa (4), la base es hidróxido sódico, hidróxido potásico, carbonato potásico, carbonato sódico, o similares, y el peróxido es peróxido de hidrógeno.

En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, la reacción en la etapa (5) se lleva a cabo en presencia de una base orgánica. La base orgánica se selecciona entre piridina, trietilamina, imidazol o similares.

65 En el procedimiento de preparación tal como se ha descrito anteriormente, dado a conocer por la presente invención, la condición ácida en la etapa (6) se refiere a ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fluorhídrico, ácido

sulfúrico, ácido para-toluenosulfónico, o similares.

En el tercer aspecto, la presente invención da a conocer una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula I, o las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz del compuesto de fórmula I, o las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo. La cantidad eficaz es, por ejemplo, aproximadamente de 0,01 mg a 1000 mg. La composición farmacéutica dada a conocer por la presente invención comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. Además, la composición farmacéutica dada a conocer por la presente invención se puede formular en una formulación adecuada para la administración oral, la administración externa o inyección, tal como comprimidos, gránulos sólidos, cápsulas, inyección o polvos liofilizados.

En el cuarto aspecto, la presente invención da a conocer la utilización del compuesto de fórmula I tal como se ha descrito anteriormente, o las sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la preparación de un medicamento hipoglucémico. La dosis diaria es aproximadamente de 0,01 mg a 1000 mg dependiendo de la especie, la edad, el género, el modo de administración y el estado.

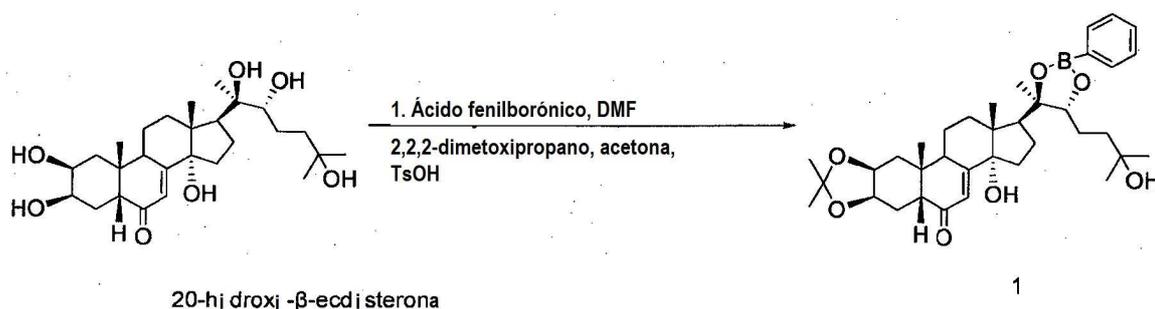
Los experimentos in vitro del consumo de glucosa en células HepG2 llevadas a cabo utilizando el compuesto de fórmula I dado a conocer por la presente invención, muestra que el compuesto posee una actividad significativa en la reducción de glucosa y en un intervalo de concentraciones de $2 \times 10^{-7} \sim 2 \times 10^{-9}$ M, puede aumentar el consumo de glucosa en células HepG2 por encima del 500%. Mientras que la 20-hidroxi- β -ecdisterona en la concentración de $2 \times 10^{-7} \sim 2 \times 10^{-8}$ M aumenta el consumo de glucosa en células HepG2 por debajo del 15%, cuando la concentración se diluye a 2×10^{-9} M, la 20-hidroxi- β -ecdisterona no tiene ningún efecto en la reducción de la glucosa en células HepG2. Por lo tanto, cuando se compara con la actividad en la reducción de glucosa del compuesto original 20-hidroxi- β -ecdisterona, la actividad en la reducción de glucosa del compuesto de fórmula I es significativamente superior a la de 20-hidroxi- β -ecdisterona. El experimento de la disolución muestra que la solubilidad en agua del compuesto de fórmula I o la sal sódica del mismo es 10 veces y 50 veces la de la 20-hidroxi- β -ecdisterona, respectivamente. Además, el experimento farmacológico in vivo muestra que el compuesto de fórmula I y la sal sódica del mismo poseen efecto de reducción de la glucosa.

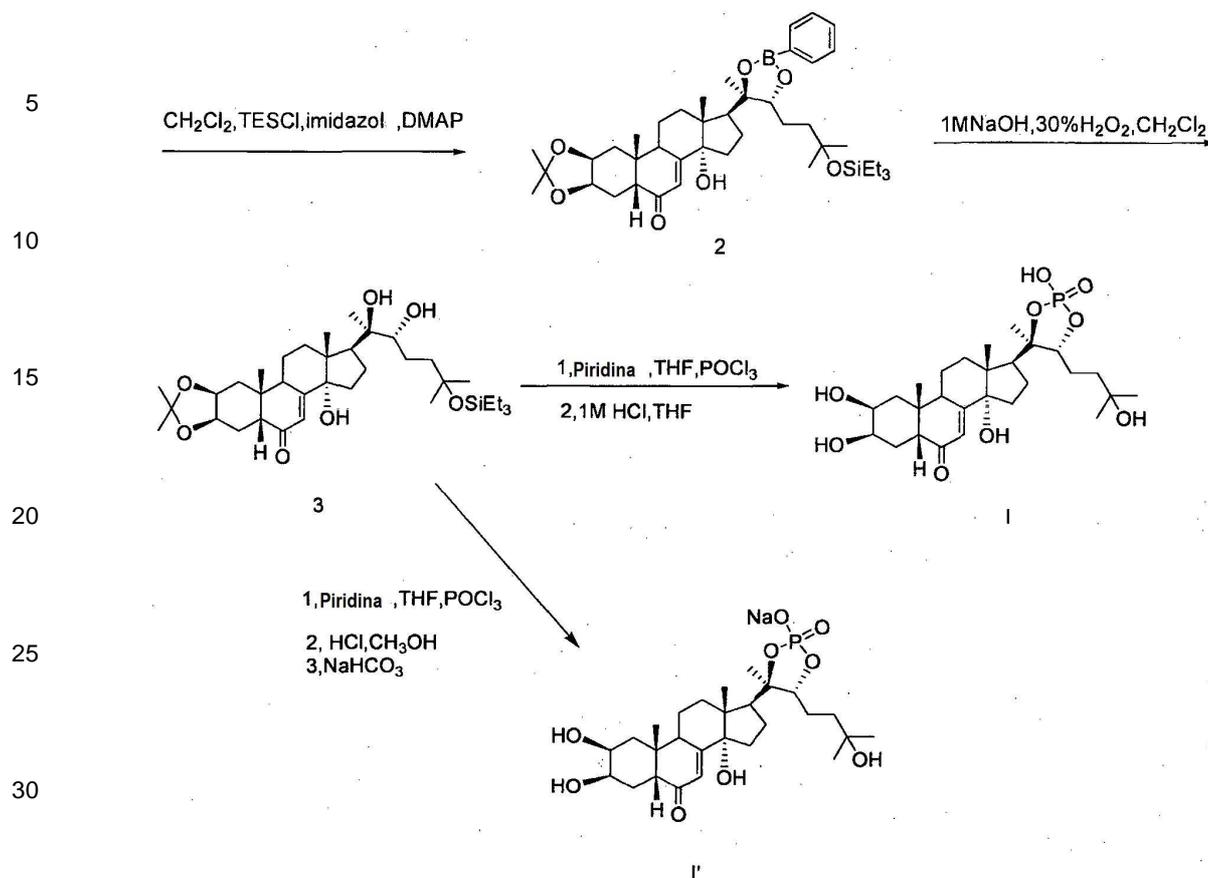
De manera adicional, en los ejemplos, se obtuvo finalmente el compuesto de fórmula I, en lugar de la ecdisterona 20 o el 22-monofosfato, lo que demuestra además que el compuesto de fórmula I forma una lactona de fosfato de cinco elementos con una estructura estable

Realizaciones preferentes de la invención

Las realizaciones de la presente invención se ilustrarán adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos. Para un experto en la materia, las modificaciones realizadas en base a la técnica anterior con las enseñanzas de la presente invención se encuentran también dentro del alcance de protección reivindicado por la presente invención.

La ruta de síntesis del compuesto de fórmula I o la sal sódica del mismo





Ejemplo 1

Preparación del compuesto de fórmula 1:

En primer lugar, se preparó el compuesto 1 (es decir, el compuesto de fórmula IV, en el que R_1 y R_2 son metilo, respectivamente).

Se disolvieron 20-hidroxi- β -ecdisterona (1,54 g, 3,21 mmol) y ácido fenilborónico (412 mg, 3,38 mmol) en 20 ml de DMF. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas, y a continuación se añadieron 40 ml de solución acuosa saturada de cloruro sódico. El líquido de reacción se diluyó con 150 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico (50 ml x 3), se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró, y se concentró para producir un sólido blanco. El producto en bruto se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Se disolvieron el producto en bruto anterior y ácido para-toluenosulfónico (55 mg, 0,32 mmol) en 40 ml de disolvente que comprende acetona y 2,2-dimetoxipropano (es decir, la fórmula III, en la que R_1 , R_2 , R_x y R_y son metilo, respectivamente) en una proporción en volumen de 50:50. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y, a continuación, se añadieron 10 ml de NaHCO_3 para interrumpir la reacción. El disolvente orgánico se extrajo por evaporación. El residuo se diluyó con 150 ml de EtOAc (acetato de etilo), se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico (50 ml x 3), se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se separó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 50%/petróleo) sobre gel de sílice, para obtener el compuesto 1 en forma de una espuma blanca (1,774 g, rendimiento del 91% en dos etapas).

En segundo lugar, se preparó el compuesto 2 (es decir, el compuesto de fórmula VI, en el que R_1 y R_2 son metilo, respectivamente, y R_3 , R_4 y R_5 son cada uno, de manera independiente, etilo).

Se disolvieron el compuesto 1 (es decir, el compuesto de fórmula IV, en el que R_1 y R_2 son metilo, respectivamente) preparado anteriormente (1,95 g, 3,21 mmol), imidazol (656 mg, 9,63 mmol) y DMAP (4-dimetilaminopiridina, 40 mg, 0,33 mmol) en 40 ml de CH_2Cl_2 . A la solución, se añadió gota a gota a temperatura ambiente TESCI (es decir, el compuesto de fórmula V, en el que R_3 , R_4 y R_5 son cada uno, de manera independiente, etilo; X es cloro) (1,13 ml, 6,43 mmol). El líquido de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, se diluyó con EtOAc (150 ml), se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico (50 ml x 3), se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y

se concentró. El residuo se separó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 17%/petróleo) sobre gel de sílice, para obtener el compuesto 2 en forma de una espuma blanca (2,11 g, rendimiento del 91%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,79 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,46 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,36 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 5,82 (s, 1H), 4,26-4,21 (m, 2H), 4,13-4,09 (m, 1H), 2,84 (t, J = 2,84, 1H), 2,38-2,34 (m, 2H), 2,11-2,04 (m, 3H), 2,04-1,81 (m, 7H), 1,78-1,57 (m, 4H), 1,54-1,45 (m, 1H), 1,50 (s, 3H), 1,34 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,27-1,22 (m, 1H), 1,26 (s, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,96 (t, J = 8,0 Hz, 9H), 0,95 (s, 3H), 0,59 (q, J = 8,0 Hz, 6H); ¹³C RMN (50 MHz, CDCl₃) δ 202,6, 162,9, 134,8, 131,3, 127,9, 127,7, 121,5, 108,3, 86,2, 85,4, 85,0, 73,0, 72,1, 71,6, 51,9, 50,8, 47,3, 42,1, 37,8, 37,6, 34,5, 31,6, 30,9, 30,4, 29,7, 28,5, 26,7, 26,4, 23,6, 22,5, 21,2, 20,5, 17,0, 14,2, 7,1, 6,8; HRMS (M+Na⁺) calculada para C₄₂H₆₅BNaO₇Si 743,4490, encontrada 743,4452; IR (KBr) 3461, 2959, 1660, 1356, 1242, 1056 cm⁻¹.

En tercer lugar, se preparó el compuesto 3 (es decir, el compuesto de fórmula VII, en el que R₁ y R₂ son metilo, respectivamente, y R₃, R₄ y R₅ son cada uno, de manera independiente, etilo).

Después de disolver el compuesto 2 preparado anteriormente (2,17 g, 3,01 mmol) en 30 ml de CH₂Cl₂, se añadieron a temperatura ambiente NaOH 1 M (20 ml) y H₂O₂ al 30% (10 ml). El líquido de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y, a continuación, se diluyó con EtOAc (100 ml). Se separó la fase orgánica. La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico (50 ml x 3), se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se separó mediante cromatografía en columna (EtOAc al 25%/petróleo) sobre gel de sílice, para obtener el compuesto 3 en forma de una espuma blanca (1,88 g, rendimiento del 98%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 5,82 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 4,27-4,20 (m, 2H), 3,42 (d, J = 10,4 Hz), 2,81 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 2,36-2,30 (m, 2H), 2,11-2,03 (m, 4H), 1,98-1,93 (dd, J = 14,4, 5,6 Hz, 1H), 1,88-1,81 (m, 2H), 1,78-1,66 (m, 6), 1,62-1,46 (m, 2H), 1,48 (s, 3H), 1,37-1,32 (m, 1H), 1,32 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,95 (t, J = 8,0 Hz, 9H), 0,86 (s, 3H), 0,59 (q, J = 8,0 Hz, 6H); ¹³C RMN (50 MHz, CDCl₃) δ 202,7, 163,3, 121,4, 108,3, 84,9, 76,6, 73,9, 72,2, 71,6, 50,8, 49,1, 47,6, 42,1, 37,8, 37,6, 34,5, 31,8, 31,2, 30,2, 29,7, 28,5, 26,7, 26,4, 26,1, 23,6, 20,8, 20,5, 20,4, 17,4, 7,1, 6,6; HRMS (M+Na⁺) calculada para C₃₆H₆₂NaO₇Si 657,4163, encontrada 657,4131; IR (KBr) 3450, 2960, 1659, 1378, 1239, 1056 cm⁻¹.

Finalmente, se preparó el compuesto de fórmula I.

Se disolvieron en THF (tetrahidrofurano) el compuesto 3 preparado anteriormente (1,28 g, 2,02 mmol) y piridina (3,4 ml). Se añadió gota a gota POCl₃ (0,96 ml, 10,5 mmol) en el líquido de reacción con enfriamiento en un baño de hielo y agua. El líquido de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas y, a continuación, se añadió H₂O (2 ml) con precaución con enfriamiento en un baño de agua y hielo para interrumpir la reacción. El líquido de reacción se diluyó con EtOAc (150 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Se disolvió el producto en bruto descrito anteriormente en 30 ml de THF y, a continuación, se añadió HCl 1 M (10 ml). El líquido de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y, a continuación, se concentró. El residuo se separó mediante cromatografía en columna C18 (MeOH al 20%/H₂O) sobre gel de sílice, para obtener el compuesto de fórmula I como un polvo blanco (880 mg, 80%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 5,81 (s, 1H), 4,24 (s, 1H), 3,94 (s, 1H), 3,84-3,81 (m, 1H), 3,16-3,12 (m, 1H), 2,40-2,36 (m, 2H), 2,17-2,10 (m, 2H), 2,02-1,88 (m, 2H), 1,84-1,62 (m, 10 H), 1,54-1,40 (m, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,19 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,86 (s, 3H); ¹³C RMN (50 MHz, CD₃OD) δ 206,3, 166,9, 122,4, 91,8, 86,7, 85,0, 70,8, 68,7, 68,5, 51,8, 51,0, 50,9, 41,5, 39,2, 37,4, 35,1, 32,8, 32,1, 31,6, 29,6, 28,9, 25,9, 25,6, 24,4, 22,3, 21,4, 17,4; ³¹P RMN δ 15,8 ppm hace referencia a H₃PO₄ externo; HRMS (M+Na⁺) calculada para C₂₇H₄₃NaO₉P 565,2542, encontrada 565,2520; IR (KBr) 3412, 2966, 1653, 1384, 1227 cm⁻¹.

Ejemplo 2:

Preparación de la sal sódica del compuesto de fórmula I (es decir, el compuesto de fórmula I '):

Se disolvieron el compuesto 3 preparado en el ejemplo 1 (5,00 g, 7,88 mmol) y piridina (12,7 ml) en 50 ml de THF. Se añadieron gota a gota lentamente 5,7 ml de oxiclورو de fósforo con enfriamiento en un baño de hielo y agua. Después de la adición, el líquido de reacción se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 4 horas, se enfrió hasta -30°C y, a continuación, se añadió gota a gota lentamente una solución saturada de bicarbonato sódico para ajustar el pH a 7. El líquido de reacción se diluyó con EtOAc (150 ml), se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El producto en bruto se utilizó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Se disolvió el producto en bruto anterior en 50 ml de solución (metanol:ácido clorhídrico al 5% = 1:9). El líquido de reacción se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 24 horas y, a continuación, se añadió una solución saturada de bicarbonato sódico para ajustar el pH a 7. La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida a 45°C. Después de evaporación a sequedad, se añadieron 50 ml de etanol para que el sólido se disolviera suficientemente y, a continuación, se filtró. A continuación, el filtrado se concentró a presión reducida a 45°C. Después de evaporación a sequedad, mediante cromatografía en columna (eluato: diclorometano:metanol = 3:1), se obtuvo la sal sódica del compuesto de fórmula I como un polvo blanco (2,5 g, 56%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 5,80 (s, 1H), 4,13 (dd, J = 9,2, 2,8, 1H), 3,95 (s, 1H), 3,84-3,81 (m, 1H), 3,17-

3,13 (m, 1H), 2,40-2,33 (m, 2H), 2,20-2,11 (m, 2H), 1,99-1,58 (m, 12 H), 1,51-1,40 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,86 (s, 3H); ¹³C RMN (50 MHz, CD₃OD) δ 206,3, 167,3, 122,2, 88,8, 85,1, 84,6, 70,9, 68,6, 68,4, 51,7, 50,9, 50,8, 42,0, 39,2, 37,3, 35,0, 32,8, 32,1, 31,7, 29,7, 28,8, 25,9, 25,8, 24,5, 22,4, 21,5, 17,5; ³¹P RMN δ 14,3 ppm hace referencia a H₃PO₄ externo; HRMS (M+H⁺) calculada para C₂₇H₄₃NaO₉P 565,2542, encontrada 565,2540 encontró; IR (KBr) 3406, 2966, 1651, 1382, 1206 cm⁻¹.

Ejemplo 3:

Preparación de un comprimido de composición farmacéutica que comprende 5 mg del compuesto de fórmula I:
El comprimido de composición farmacéutica comprende los siguientes componentes:

compuesto de fórmula I	5 mg
lactosa	70 mg
celulosa microcristalina	40 mg
hipromelosa	2 mg
hidroxipropilcelulosa sustituida inferior	10 mg
estearato de magnesio	1 mg

El comprimido de composición farmacéutica se preparó mediante las siguientes etapas de cada componente del contenido descrito anteriormente:

La hipromelosa se disolvió en una cantidad adecuada de agua, que está lista para usar; se mezclaron de manera uniforme el principio activo (el compuesto de fórmula I) y la lactosa, la celulosa microcristalina, la hidroxipropilcelulosa sustituida inferior; se añadió una cantidad adecuada de solución de hipromelosa y, a continuación, se agitó la mezcla resultante para preparar el material blando; el material blando se granuló mediante un tamiz de malla 20 para obtener gránulos húmedos; los gránulos húmedos se secaron a 40~50°C para obtener gránulos secos; los gránulos secos se pasaron a través de un tamiz de malla 20 para el acabado; se añadió estearato de magnesio y se mezcló de manera uniforme; se determinó el contenido de los gránulos, y se calculó el peso del comprimido y, a continuación, se prensó.

Ejemplo 4:

Preparación de un comprimido de composición farmacéutica que comprende 100 mg del compuesto de fórmula I:
El comprimido de composición farmacéutica comprende los siguientes componentes:

compuesto de fórmula I	100 mg
lactosa	150 mg
celulosa microcristalina	100 mg
hipromelosa	4 mg
hidroxipropilcelulosa sustituida inferior	20 mg
estearato de magnesio	4 mg

El comprimido de composición farmacéutica se preparó mediante las siguientes etapas de cada componente del contenido descrito anteriormente:

La hipromelosa se disolvió en una cantidad adecuada de agua, que está lista para usar; se mezclaron de manera uniforme el principio activo (el compuesto de fórmula I) y la lactosa, la celulosa microcristalina, la hidroxipropilcelulosa sustituida inferior; se añadió una cantidad adecuada de solución de hipromelosa y, a continuación, se agitó la mezcla resultante para preparar el material blando; el material blando se granuló mediante un tamiz de malla 20 para obtener gránulos húmedos; los gránulos húmedos se secaron a 40~50°C para obtener gránulos secos; los gránulos secos se pasaron a través de un tamiz de malla 20 para el acabado; se añadió estearato de magnesio y se mezcló de manera uniforme; se determinó el contenido de los gránulos, y se calculó el peso del comprimido y, a continuación, se prensó.

Ejemplo 5:

Preparación de una cápsula de composición farmacéutica que comprende 50 mg del compuesto de fórmula I:

5 La cápsula de composición farmacéutica comprende los siguientes componentes:

compuesto de fórmula I	50 mg
lactosa	50 mg
micropolvo de gel de sílice	3 mg
estearato de magnesio	1 mg

La cápsula de composición farmacéutica se preparó mediante las siguientes etapas de cada componente del contenido descrito anteriormente:

10 se mezclaron de manera uniforme el principio activo (el compuesto de fórmula I), la lactosa, el micropolvo de gel de sílice y el estearato de magnesio; se determinó el contenido de polvo, se calculó la carga y, a continuación, se cargó la mezcla en una cápsula dura con un tamaño adecuado.

15 **Ejemplo de experimento 1: experimento para el consumo de glucosa in vitro en células HepG2 del compuesto de fórmula I:**

El experimento para el consumo de glucosa in vitro en células HepG2 se realizó sobre el compuesto de fórmula I preparado en el ejemplo 1, de la siguiente manera:

20 Se seleccionaron células HepG2 con buen estado de crecimiento y se digirieron con jugo digestivo con tripsinasa y EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). Después de completar la digestión, la mezcla resultante se formuló con DMEM (medio Eagle modificado por Dulbecco) que tenía suero bovino fetal (FBS) al 10% en una suspensión de células individuales. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos, con 1×10^4 células por pocillo. Una vez la confluencia celular alcanzó el 50%, el medio se cambió a DMEM con alto contenido de glucosa sin suero, se cultivó sin nutrientes durante 12 horas. Se pipeteó el sobrenadante celular y se añadió DMEM fresco con alto contenido de glucosa con o sin medicamentos. Las células se dividieron en un grupo de control blanco, un grupo con 20-hidroxi- β -ecdisterona y un grupo con compuesto de fórmula I. Después de cultivar durante 24 horas, se analizó cada grupo para determinar el cambio de glucosa en el medio utilizando el procedimiento de la glucosa oxidasa. El resultado del análisis se mostró en la tabla 1 a continuación.

30

Tabla 1. Los efectos del compuesto de fórmula I y la 20-hidroxi- β -ecdisterona sobre el consumo de glucosa en células HepG2 ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

Grupo	Concentración de la medicación (M)	Consumo de glucosa (mM)	Aumento del consumo de glucosa (mM)
grupo de control blanco		$1,32 \pm 0,17$	-
20-hidroxi- β -ecdisterona	2×10^{-7}	$1,45 \pm 0,28$	0,13
	2×10^{-8}	$1,38 \pm 0,11$	0,06
	2×10^{-9}	$1,30 \pm 0,23$	-
el compuesto de fórmula I	2×10^{-7}	$6,96 \pm 0,23$	5,64
	2×10^{-8}	$6,51 \pm 0,12$	5,19
	2×10^{-9}	$6,46 \pm 0,19$	5,14

35 Los resultados experimentales se muestran en la tabla 1. El compuesto de fórmula I posee una actividad significativa en la reducción de la glucosa, y en un intervalo de concentraciones de $2 \times 10^{-7} \sim 2 \times 10^{-9}$ M podría aumentar el consumo de glucosa en células HepG2 por encima del 500%. Mientras que la 20-hidroxi- β -ecdisterona en concentración de $2 \times 10^{-7} \sim 2 \times 10^{-8}$ M aumenta el consumo de glucosa en células HepG2 por debajo del 15%, cuando la concentración se diluye en 2×10^{-9} M, la 20-hidroxi- β -ecdisterona no tiene ningún efecto en la reducción de la glucosa en células HepG2. Por lo tanto, cuando se compara con la actividad en la reducción de la glucosa del compuesto original 20-hidroxi- β -ecdisterona, la actividad en la reducción de la glucosa del compuesto de fórmula I es significativamente superior a la de 20-hidroxi- β -ecdisterona.

45 **Ejemplo de experimento 2: experimento de disolución para el compuesto de fórmula 1 y la sal sódica del mismo**

El compuesto de fórmula I (preparado según el procedimiento del ejemplo 1) es un polvo cristalino de color blanco o blanquecino, siendo el punto de fusión de $164 \sim 177^\circ\text{C}$, siendo la fórmula molecular de $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{O}_9\text{P}$, y siendo el peso molecular de 542,6. La cantidad de agua necesaria para disolver completamente este producto (1 g) es de 12 ml. La solubilidad de este producto es 10 veces la de 20-hidroxi- β -ecdisterona.

50

La sal sódica del compuesto de fórmula I (preparado según el procedimiento del ejemplo 2) es un polvo cristalino de

color blanco o blanquecino, siendo el punto de fusión de 173 ~ 185°C, siendo la fórmula molecular de $C_{27}H_{42}O_9NaP$, y siendo el peso molecular de 564,6. La cantidad de agua necesaria para disolver completamente este producto (1 g) es de 2,5 ml. La solubilidad de este producto es 50 veces la de 20-hidroxi- β -ecdisterona.

5 **Ejemplo de experimento 3: experimento farmacológico para el compuesto de fórmula 1 y la sal sódica del mismo**

Los experimentos farmacológicos se llevaron a cabo con el compuesto de fórmula 1 y la sal sódica del mismo preparados en el ejemplo 1 y el ejemplo 2, tal como se indica a continuación:

10 40 ratones macho con un peso corporal de $21 \pm 1,8$ g (ratón Kunming: grado SPF, macho, proporcionado por el centro de animales de laboratorio de la Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences) se agruparon en 4 grupos de forma aleatoria, que son un grupo de control, un grupo con 5 mg/kg del compuesto de fórmula I, un grupo con 5 mg/kg de la sal sódica del compuesto de fórmula I, y un grupo con 25 mg/kg de Glibenclamida (fabricada por Tianjin Pacific Chemical & Pharmaceutical Co., LTD). Para el grupo de control, se administró agua destilada, mientras que para otros grupos, se administraron los medicamentos correspondientes. El medicamento se administró por vía intragástrica en 0,2 ml/10 g de volumen de administración dos veces al día. Se continuó con la administración 19 veces. En la 5ª vez y la 19ª vez y después de ayunar completamente durante 2 horas, se analizó el índice de glucosa en sangre para cada ratón mediante un medidor de glucosa en sangre, y se registraron los resultados de la siguiente manera:

Tabla 2. Los efectos del compuesto de fórmula I y la sal sódica del mismo sobre el nivel de glucosa en sangre en ratones normales ($X \pm S$)

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Glucosa en sangre mmol/l	
			3 días después de dosificación	10 días después de dosificación
control		10	$11,4 \pm 2,1$	$11,5 \pm 1,9$
compuesto de fórmula I	5	10	$10,4 \pm 1,7$	$9,1 \pm 2,3^*$
sal sódica del compuesto de fórmula I	5	10	$10,2 \pm 1,9$	$9,8 \pm 1,4^*$
Glibenclamida	25	10	$9,3 \pm 0,9^*$	$9,9 \pm 0,9^*$
En comparación con el grupo de control: *P < 0,05.				

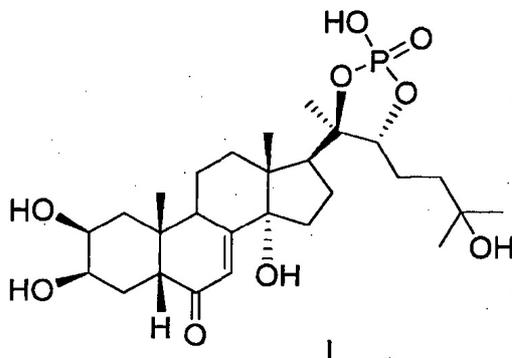
25 En base a la tabla 2, el compuesto de fórmula I y la sal sódica del mismo presentan los efectos en la reducción de la glucosa en ratones normales.

30 **Aplicabilidad industrial**

La presente invención prepara un nuevo compuesto con una estructura estable, buena solubilidad en agua y una excelente actividad en la reducción de la glucosa.

REIVINDICACIONES

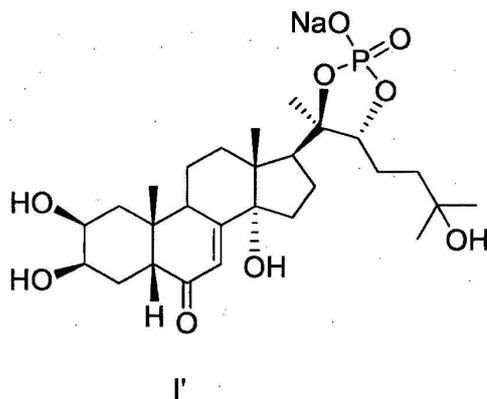
1. Compuesto que tiene la estructura de fórmula I:



o sales o solvatos del mismo farmacéuticamente aceptables.

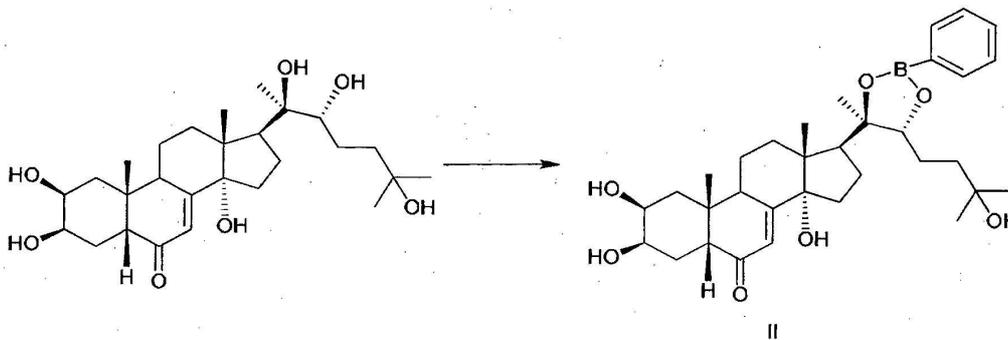
2. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que las sales farmacéuticamente aceptables se seleccionan entre sales metálicas o sales de aminas orgánicas o de amonio.

3. Compuesto, según la reivindicación 2, en el que las sales metálicas son sales sódicas, es decir, el compuesto de fórmula I':

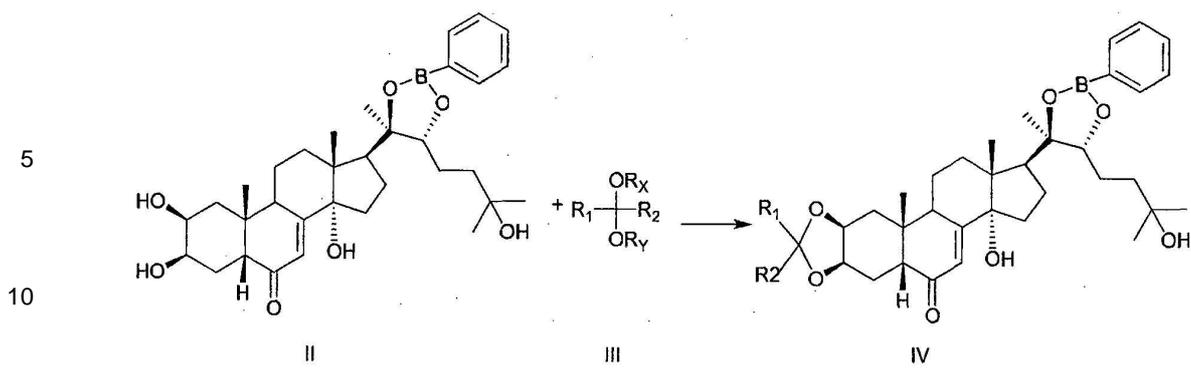


4. Procedimiento para preparar el compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende las etapas de:

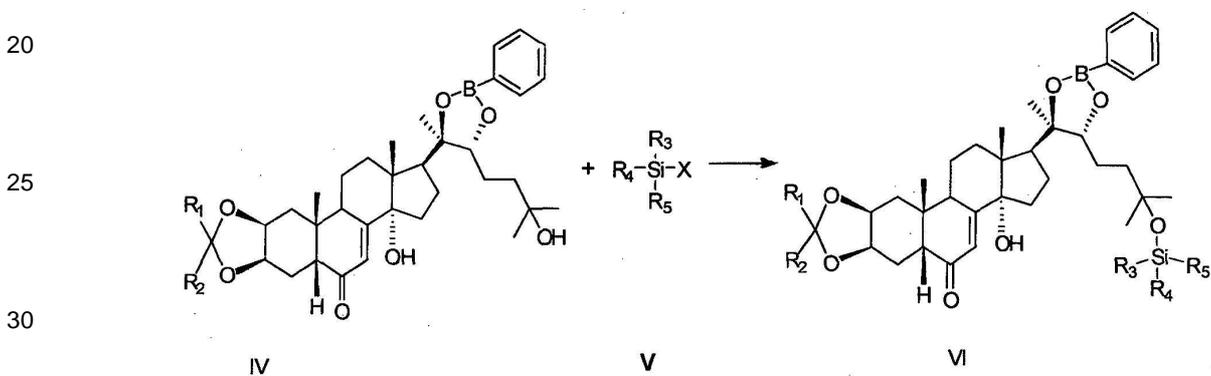
(1) utilizar 20-hidroxi- β -ecdisterona como material de partida para reaccionar con ácido fenilborónico en presencia de un disolvente orgánico, para producir un compuesto de fórmula II:



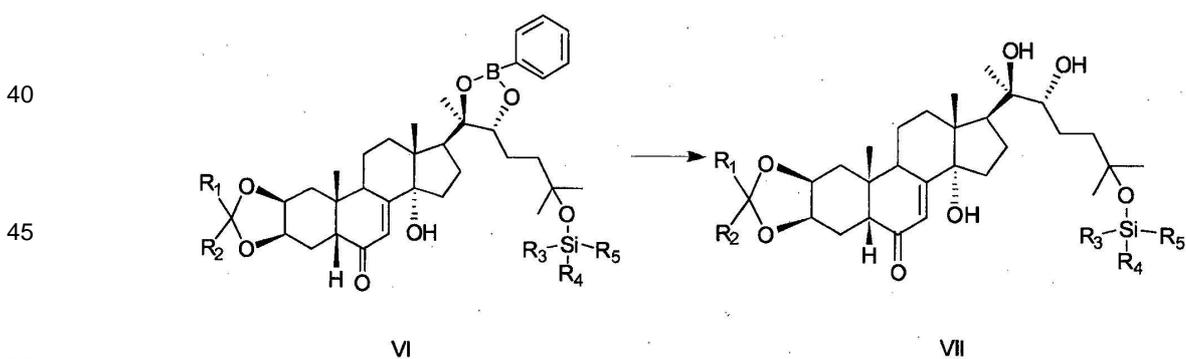
(2) hacer reaccionar el compuesto de fórmula II con un compuesto de fórmula III en condiciones ácidas para producir un compuesto de fórmula IV; en el que, R_1 y R_2 en los compuestos de fórmulas III y IV son cada uno, de manera independiente, hidrógeno, alquilo C1-C4 o fenilo, R_x y R_y son cada uno, de manera independiente, alquilo C1-C4, fenilo, o R_xO- y R_yO- , junto con el carbono al que están unidos, forman carbonilo:



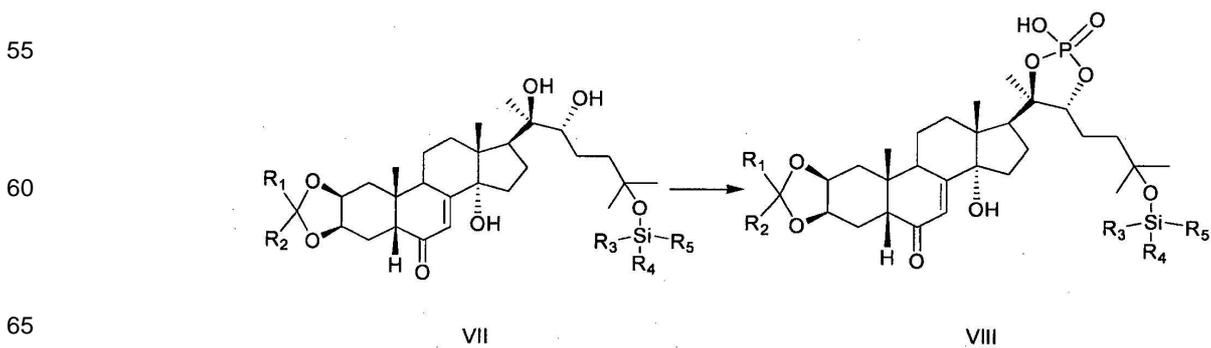
15 (3) hacer reaccionar el compuesto de fórmula IV con un compuesto de fórmula V para producir un compuesto de fórmula VI, en el que R_3 , R_4 y R_5 en la fórmula V se seleccionan cada uno, de manera independiente, entre alquilo C1-C4; X es halógeno; las definiciones de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 en la fórmula VI son las mismas que en la fórmula IV y la fórmula V:



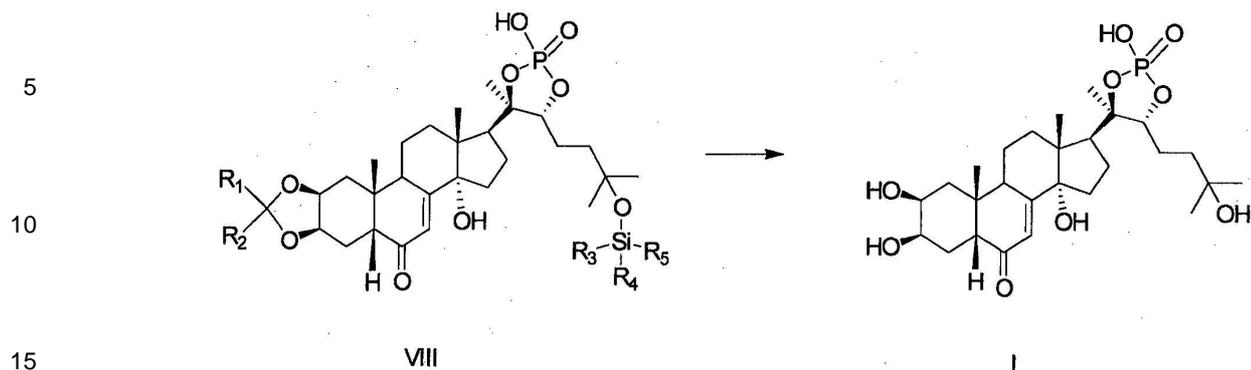
35 (4) desproteger el compuesto de fórmula VI en presencia de una base y un peróxido para producir un compuesto de fórmula VII; siendo las definiciones de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 en la fórmula VII las mismas que en la fórmula IV y la fórmula V:



55 (5) hacer reaccionar el compuesto de fórmula VII con POCl_3 para producir el compuesto de fórmula VIII, siendo las definiciones de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 en la fórmula VIII las mismas que en la fórmula IV y la fórmula V:



(6) desproteger el compuesto de fórmula VIII en condiciones ácidas para producir el compuesto de fórmula I:



5. Procedimiento, según la reivindicación 4, en el que, después de obtener el compuesto de fórmula I en la etapa (6), se utiliza un procedimiento de salificación convencional para producir la sal del compuesto de fórmula I.

6. Procedimiento, según la reivindicación 4, en el que R_1 , R_2 , R_x y R_y en el compuesto de fórmula III en la etapa (2) son de manera simultánea metilo.

7. Procedimiento, según la reivindicación 4, en el que R_3 , R_4 y R_5 en el compuesto de fórmula V en la etapa (3) son de manera simultánea metilo o etilo; X es cloro.

8. Procedimiento, según la reivindicación 4, en el que el disolvente orgánico en la etapa (1) se selecciona entre dimetilformamida, dimetilacetamida, tetrahidrofurano o dimetilsulfóxido; la temperatura de reacción es de 0 ~ 50°C; las condiciones ácidas en la etapa (2) significan en presencia de un catalizador ácido, y el catalizador ácido se selecciona entre ácido para-toluenosulfónico, para-toluenosulfonato de piridinio o cloruro estannoso; la reacción en la etapa (3) se lleva a cabo en presencia de una base orgánica y un activador; la base orgánica se selecciona entre imidazol, N-metilmorfolina, piridina o trietilamina, el activador se selecciona entre 4-dimetilaminopiridina o dimetilformamida; la base en la etapa (4) es hidróxido sódico, hidróxido potásico, carbonato potásico o carbonato sódico, y el peróxido es peróxido de hidrógeno; la reacción en la etapa (5) se lleva a cabo en presencia de una base orgánica, y la base orgánica se selecciona entre piridina, trietilamina o imidazol.

9. Composición farmacéutica que comprende el compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

10. Utilización del compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la preparación de un medicamento hipoglucémico.