

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 253**

51 Int. Cl.:

**C07D 309/10** (2006.01)

**A61K 31/351** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2011 E 11818240 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.08.2015 EP 2607360**

54 Título: **Compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol**

30 Prioridad:

**20.08.2010 JP 2010184866**

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

**22.09.2015**

73 Titular/es:

**TAISHO PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)  
24-1, Takada 3-chome Toshima-ku  
Tokyo 170-8633, JP**

72 Inventor/es:

**KAKINUMA, HIROYUKI;  
KOBASHI, YOHEI;  
CHONAN, TOMOMICHI;  
SHIOZAWA, FUMIYASU;  
IWATA, YUKI;  
OI, TAKAHIRO y  
KAWABE, KENICHI**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 546 253 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

Compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol

5 **Campo técnico**

Esta invención se refiere a un compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol que tiene una actividad inhibitora específica para el transportador de glucosa dependiente de sodio 1 (en lo sucesivo abreviado como "SGLT1" por comodidad) involucrado en la absorción de glucosa y galactosa en el intestino delgado.

10

**Antecedentes de la técnica**

Los niveles sanguíneos de glucosa se utilizan como un biomarcador del síndrome metabólico y las personas son diagnosticadas de diabetes si sus niveles sanguíneos de glucosa en ayunas superan los 126 mg/dl. Además, incluso si los niveles sanguíneos de glucosa en ayunas entran dentro de un intervalo normal, algunas personas tienen los niveles sanguíneos de glucosa postprandiales a las 2 horas tan altos como de 140 a 200 mg/dl y son diagnosticadas de tolerancia a la glucosa alterada (o hiperglucemia postprandial). Estudios epidemiológicos recientes han informado de que la tolerancia a la glucosa aumenta el riesgo de trastornos cardiovasculares (ver documentos no de patente 1 y 2). Además, se ha informado de que la terapia de ejercicio y/o medicación no solamente suprime el desarrollo de la diabetes de tipo II a partir de la tolerancia a la glucosa alterada, sino que también suprime significativamente la aparición de la hipertensión (ver documento no de patente 3).

15

20

En vista de lo anterior, la supresión de la hiperglucemia postprandial es de importancia en la supresión de la aparición de la diabetes y/o el síndrome metabólico y en consecuencia ha habido una creciente demanda de fármacos utilizados para controlar la hiperglucemia postprandial.

25

Como fármacos para mejorar la hiperglucemia postprandial, se han utilizado convencionalmente inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa ampliamente, que inhiben las hidrolasas de azúcar y de ese modo retrasan la absorción del azúcar en el intestino delgado. Además de estos agentes, se han desarrollado otros agentes con un nuevo mecanismo de acción para mejorar la hiperglucemia postprandial.

30

En el epitelio del intestino delgado de los mamíferos, el transportador de glucosa dependiente de sodio 1 (SGLT1) se expresa en una alta frecuencia. Se sabe que el SGLT1 funciona dependiendo del sodio y que desempeña un papel en el transporte activo de glucosa o galactosa en el intestino delgado. En base a estos descubrimientos, se ha informado de derivados de pirazol, que inhiben la actividad del SGLT1 para suprimir de ese modo la absorción de la glucosa de una comida y puede utilizarse para la prevención o el tratamiento de la hiperglucemia postprandial (véanse documentos de patente 1 a 6). Por otro lado, el transportador de glucosa dependiente de sodio 2 (SGLT2) se expresa en una alta frecuencia en el riñón y la glucosa una vez filtrada por los glomérulos se reabsorbe a través del SGLT2 (véase el documento no de patente 4). Por otra parte, se ha informado de que con la inhibición de la actividad del SGLT2, la excreción de azúcar en la orina se facilita para inducir una acción hipoglucemiante (véase el documento no de patente 5). Los inhibidores del SGLT2 se caracterizan por que tienen una acción hipoglucemiante excelente para reducir los niveles sanguíneos de glucosa casuales, pero su acción para controlar la hiperglucemia postprandial es escasa, a diferencia de los inhibidores de SGLT1. Además, existe un informe de que los derivados de C-fenilglucitol inhiben no solamente la actividad del SGLT1 sino también la actividad del SGLT2 al mismo tiempo (véase documento de patente 7).

35

40

45

Por otro lado, en el caso de los fármacos que es necesario administrar de forma continua, incluyendo los fármacos para mejorar la hiperglucemia postprandial, es importante tener un amplio margen de seguridad entre la dosis terapéutica y la dosis tóxica o de efecto secundario. En el caso de fármacos con tendencia a permanecer en el cuerpo, su dosis necesaria para el tratamiento es particularmente difícil de controlar, de manera que se desarrollará un efecto excesivo de los fármacos como resultado de la suma de los fármacos residuales que quedan en el cuerpo, lo que conduce a la toxicidad inesperada y a los efectos secundarios. Por ejemplo, se sabe que los fármacos catiónicos cuya molécula tiene un grupo hidrófilo (por ejemplo, una amina terciaria) y un grupo hidrófobo (por ejemplo, un anillo aromático) se unen a los fosfolípidos a través de una unión hidrófoba y son captados por los lisosomas y por tanto se acumulan en todos los órganos en el cuerpo. Como ejemplos típicos, está demostrado que la cloroquina causa retinopatía, mientras que la perhexilina da lugar a un problema de neuropatía porque induce cambios en el pulmón y el cerebelo (véase el documento no de patente 6).

50

55

Por tanto, se desea que los fármacos se excreten rápidamente del cuerpo después de desarrollar su eficacia. En particular, se desea que los fármacos para mejorar la hiperglucemia postprandial que deben administrarse de forma continua no presenten el problema de la acumulación en el cuerpo.

60

LISTA DE CITAS

65 DOCUMENTOS DE PATENTE

Documento de patente 1: folleto de la publicación internacional WO2002/098893  
 Documento de patente 2: folleto de la publicación internacional WO2004/014932  
 Documento de patente 3: folleto de la publicación internacional WO2004/018491  
 Documento de patente 4: folleto de la publicación internacional WO2004/019958  
 Documento de patente 5: folleto de la publicación internacional WO2005/121161  
 Documento de patente 6: folleto de la publicación internacional WO2004/050122  
 Documento de patente 7: folleto de la publicación internacional WO2007/136116

DOCUMENTOS NO DE PATENTE

Documento no de patente 1: Pan XR, *et al. Diabetes Care*, Vol. 20, pág. 537, 1997  
 Documento no de patente 2: M Tominaga, *et al. Diabetes Care*, Vol. 22, pág. 920, 1999  
 Documento no de patente 3: J.-L. Chiasson, *et al. Lancet*, Vol. 359, pág. 2072, 2002  
 Documento no de patente 4: E. M. Wright, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, Vol. 280, página F10, 2001  
 Documento no de patente 5: G. Toggenburger, *et al. Biochim. Biophys. Acta*, Vol. 688, pág.557, 1982  
 Documento no de patente 6: *Folia Pharmacol. Jpn.* Vol. 113, pág. 19, 1999

**Sumario de la invención**

**Problema técnico**

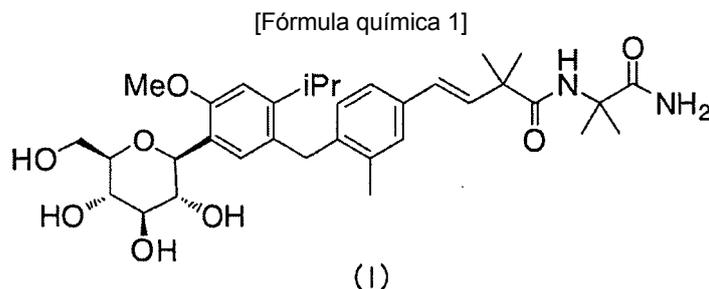
Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol o una sal del mismo que muestre una acción inhibitora del SGLT1 con un amplio margen de seguridad entre una dosis terapéutica y una dosis tóxica o de efecto secundario, así como una preparación farmacéutica que comprenda el mismo.

**Solución al problema**

Se descubrió que los derivados de C-fenilglucitol descritos en el documento de patente 7 tienen una tendencia a permanecer en el riñón sin excretarse desde dentro del cuerpo. Por tanto, los inventores de la presente invención buscaron un compuesto que no presente el problema de permanecer en el cuerpo y realizaron estudios diligentes. Como resultado, han descubierto que el compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol de la fórmula (I) que se muestra a continuación, que se obtiene, en particular, mediante la introducción de un grupo isopropilo y un grupo metoxi en el anillo de benceno unido directamente al resto de azúcar y la introducción de un grupo butenoilo que tiene un grupo amino en otro anillo de benceno, no permanece en el riñón, en contra de sus expectativas. Este descubrimiento ha conducido a la finalización de la presente invención.

A continuación se describirán los aspectos del compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol de la presente invención (en adelante denominado como el "compuesto de la presente invención").

(1) Un compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol representado mediante la siguiente fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(2) Una composición farmacéutica que comprende el compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como un principio activo y un vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables.

(3) El compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido en (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como un medicamento.

(4) El compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido en (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la hiperglucemia postprandial.

(5) El compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido en (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o prevención de la diabetes.

(6) El uso del compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol de acuerdo con (1) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de una preparación profiláctica o terapéutica para la diabetes.

**Efectos ventajosos de la invención**

Según la presente invención, ha llegado a ser posible proporcionar un compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol que inhiba la actividad del SGLT1 sin permanecer en el cuerpo.

5

**Descripción de las realizaciones**

Los términos utilizados en la presente invención se definirán a continuación.

10 Se pretende que la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" signifique, por ejemplo, una sal con un metal alcalino, un metal alcalinotérreo, amonio o un alquilamonio o una sal con un ácido mineral o un ácido orgánico. Los ejemplos incluyen una sal de sodio, una sal de potasio, una sal de calcio, una sal de amonio, una sal de aluminio, una sal de trietilamonio, una sal de formiato, una sal de acetato, una sal de propionato, una sal de butirato, una sal de hexanoato, una sal de octanoato, una sal de trifluoroacetato, una sal de maleato, una sal de tartrato, una sal de citrato, una sal de estearato, una sal de succinato, una sal de etilsuccinato, una sal de lactobionato, una sal de gluconato, una sal de glucuronato, una sal de glucoheptato, una sal de glutarato, un sal de pimelato, una sal de suberato, una sal de azelato, una sal de sebacato, una sal de 1,9-nonanodicarboxilato, una sal de dodecanodioato, una sal de tridecanodioato, una sal de tetradecanodioato, una sal de pentadecanodioato, una sal de hexadecanodioato, una sal de heptadecanodioato, una sal de benzoato, una sal de 2-hidroxibenzoato, una sal de metanosulfonato, una sal de etanosulfonato, una sal de etanodisulfonato, una sal de 2-hidroxietanosulfonato, una sal bencenosulfonato, una sal de p-toluenosulfonato, una sal de 1,5-naftalenodisulfonato, una sal de laurilsulfato, una sal de lactato, una sal de hipurato, una sal de fumarato, una sal de malonato, una sal de trans-cinamato, una sal de malato, una sal de aspartato, una sal de glutamato, una sal de adipato, una sal con cisteína, una sal con N-acetilcisteína, una sal de clorhidrato, una sal de bromhidrato, una sal de fosfato, una sal de sulfato, una sal de yodhidrato, una sal de nicotinato, una sal de oxalato, una sal de picrato, una sal de tiocianato, una sal de undecanoato, una sal con un polímero de acrilato y una sal con un polímero de carboxivinilo.

El "compuesto de la presente invención o la sal del mismo" incluyen también sus hidratos farmacéuticamente aceptables. El compuesto de la presente invención o la sal del mismo pueden estar expuestos a la atmósfera o pueden absorber agua durante el proceso de producción para tener agua de adsorción o pueden convertirse en un hidrato. Un hidrato de este tipo está incluido en los hidratos de la presente invención.

Se pretende que la expresión "fármaco para mejorar la hiperglucemia postprandial" signifique un fármaco que suprime la hiperglucemia postprandial para suprimir de ese modo la aparición de enfermedades relacionadas con la hiperglucemia postprandial (por ejemplo, diabetes, síndrome metabólico) o tratar estas enfermedades. Como se utiliza en el presente documento, se pretende que la expresión "hiperglucemia postprandial" signifique un estado donde los niveles sanguíneos de glucosa se elevan anormalmente después de una comida, más específicamente un estado donde los niveles sanguíneos de glucosa postprandiales a las 2 horas superan los 140 mg/dl.

La utilidad del compuesto de la presente invención se describirá a continuación (para más detalles, véanse los ejemplos de ensayo descritos más adelante).

El compuesto de la presente invención tiene una fuerte actividad inhibidora del SGLT1 y también tiene alguna, aunque débil, actividad inhibidora del SGLT2. Por otra parte, el compuesto de la presente invención tiene un efecto hipoglucemiante tan fuerte como el de los compuestos desvelados en el documento WO2007/136116. Además, los compuestos desvelados en el documento WO2007/136116 tienden a permanecer en el riñón sin excretarse incluso al séptimo día después de la administración oral de 1 mg/kg, mientras que el compuesto de la presente invención mostró un rasgo característico por el que incluso cuando se administró durante 3 días consecutivos en una dosis de 3 mg/kg, inesperadamente no permanecía en el riñón al segundo día posterior.

Por tanto, el compuesto de la presente invención no permanece en el cuerpo y es menos probable que cause los efectos secundarios y la toxicidad debida a la administración continua y por tanto se cree que es excelente en la aplicabilidad práctica como una preparación farmacéutica.

55 Cuando el compuesto de la presente invención se va a proporcionar como una preparación farmacéutica, pueden adoptarse diversas formas de dosificación tales como sólidos y líquidos, según sea adecuado. En este caso, también puede incorporarse un vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de un vehículo de este tipo incluyen excipientes comúnmente utilizados, diluyentes, aglutinantes, agentes disgregantes, agentes de recubrimiento, agentes de recubrimiento con azúcar, ajustadores de pH, solubilizantes o disolventes acuosos o no acuosos. El compuesto de la presente invención y estos vehículos pueden formularse en comprimidos, píldoras, 60 cápsulas, gránulos, polvos, polvos finos, líquidos, emulsiones, suspensiones u otras formas de dosificación.

Por ejemplo, el compuesto de la presente invención puede proporcionarse en forma de comprimidos orales mediante la mezcla y la formación de comprimidos con excipientes y demás que se utilizan comúnmente para la fabricación de preparaciones sólidas.

65

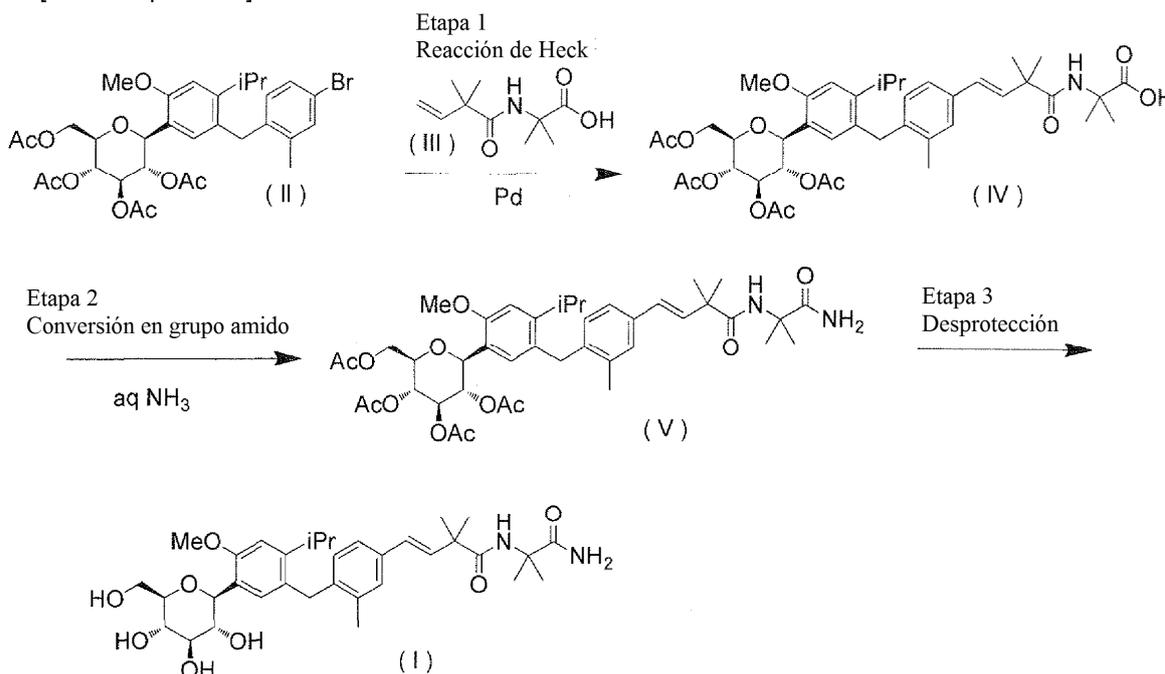
Además, el compuesto de la presente invención se somete a la inclusión en  $\alpha$ -,  $\beta$ - o  $\gamma$ -ciclodextrina o ciclodextrina metilada, con lo que su solubilidad puede mejorarse.

La dosis del compuesto de la presente invención variará dependiendo de la enfermedad, los síntomas, el peso corporal, la edad y el sexo del paciente, la vía de administración, etc. Sin embargo, la dosis diaria para adultos es de 0,1 a 1000 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 0,1 a 200 mg/kg de peso corporal y más preferentemente de 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal. Esta dosis puede administrarse una vez al día o en varias porciones divididas por día.

10 Método de producción 1

El compuesto (I) de la presente invención puede sintetizarse de la siguiente manera:

[Fórmula química 2]



15

(1) Etapa 1 (reacción de Heck)

20 El compuesto (II) y el ácido carboxílico olefínico (III) pueden someterse a la reacción de Heck en presencia de un catalizador de paladio, un ligando de fosfina y una base adecuada para proporcionar el compuesto (IV). Los ejemplos de catalizador de paladio utilizado para este propósito incluyen acetato de paladio, tetraquis(trifenilfosfina)paladio, dibencilidenacetonaaladio, cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio, cloruro de bis(triciclohexilfosfina)paladio y paladio sobre carbón activado. Los ejemplos del ligando de fosfina incluyen

25 trifenilfosfina y tri-*o*-tolilfosfina. Del mismo modo, los ejemplos de la base disponible para su uso incluyen trietilamina, N,N-diisopropiletilamina, carbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de cesio y *t*-butóxido de potasio. Los ejemplos de un disolvente utilizado para la reacción incluyen acetonitrilo, tolueno y tetrahidrofurano. La temperatura de reacción es de 0°C a la temperatura de reflujo o puede utilizarse un horno de microondas.

30 (2) Etapa 2 (conversión en grupo amido)

El compuesto (IV) puede someterse a condensación por deshidratación con amoníaco utilizando una solución acuosa de amoníaco al 28 % para proporcionar el compuesto (V). Los ejemplos de un disolvente utilizado para esta reacción incluyen cloroformo, diclorometano y N,N-dimetilformamida. Los ejemplos del agente de condensación por

35 deshidratación incluyen N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), clorhidrato de N-etil-N'-3-dimetilaminopropilcarbodiimida (EDC-HCl), 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) y EDC-HCl/monohidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt·H<sub>2</sub>O). La temperatura de reacción en este caso es de 0°C a 60°C.

40 (3) Etapa 3 (desprotección)

Los grupos acetilo (Ac) del compuesto (V) pueden eliminarse en condiciones básicas para proporcionar el compuesto (I). Una base, tal como metóxido de sodio, hidróxido de sodio, hidróxido de litio, carbonato de potasio,

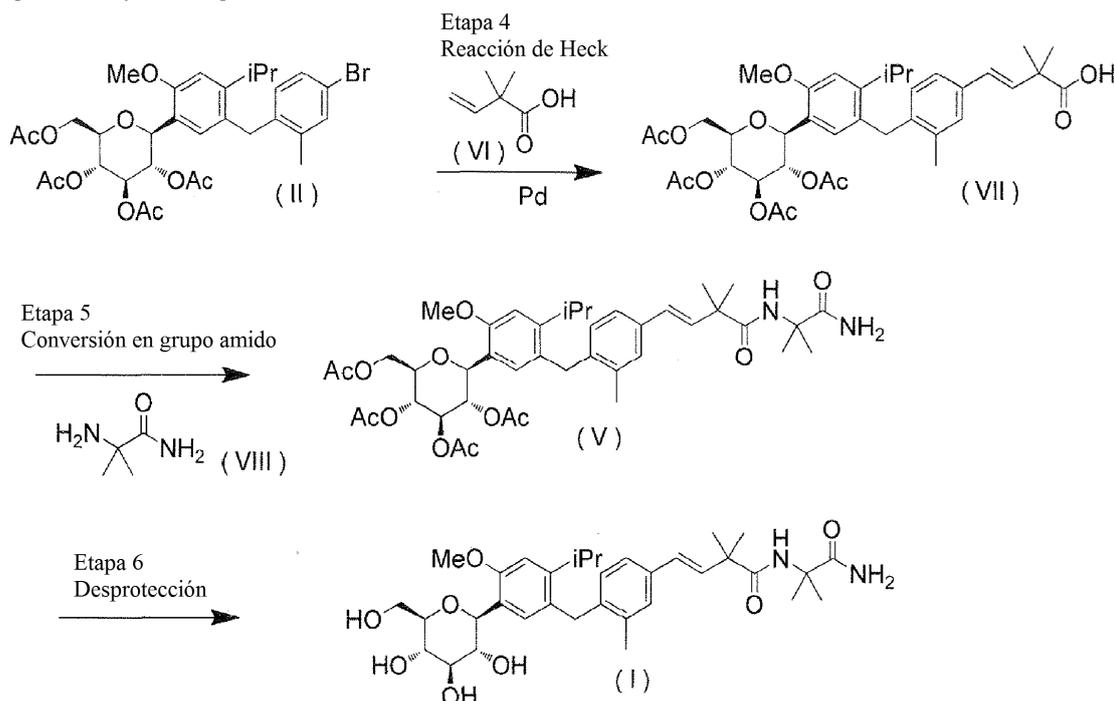
carbonato de cesio o trietilamina, puede utilizarse en la eliminación de los grupos acetilo para la desprotección. Como un disolvente se nombra, por ejemplo, al metanol, etanol o metanol acuoso. La temperatura de reacción en este caso es de 0°C a 60°C.

5 Método de producción 2

El compuesto (I) de la presente invención también puede sintetizarse mediante otra vía como se muestra a continuación. Los símbolos que se muestran allí tienen los mismos significados que aquellos presentados anteriormente.

10

[Fórmula química 3]



(4) Etapa 4 (reacción de Heck)

15

El compuesto (II) y el ácido carboxílico olefínico (VI) pueden utilizarse y someterse a la reacción de Heck como se muestra en la etapa 1 del método de producción 1 para proporcionar el compuesto (VII).

(5) Etapa 5 (conversión en grupo amido)

20

El compuesto (VII) y la amina (VIII) pueden utilizarse y someterse a condensación por deshidratación como se muestra en la etapa 2 del método de producción de 1 para proporcionar el compuesto (V).

(6) Etapa 6 (desprotección)

25

El compuesto (V) obtenido anteriormente puede convertirse en el compuesto (I) mediante la reacción de desprotección descrita en la etapa 3 del método de producción 1.

Método de producción 3

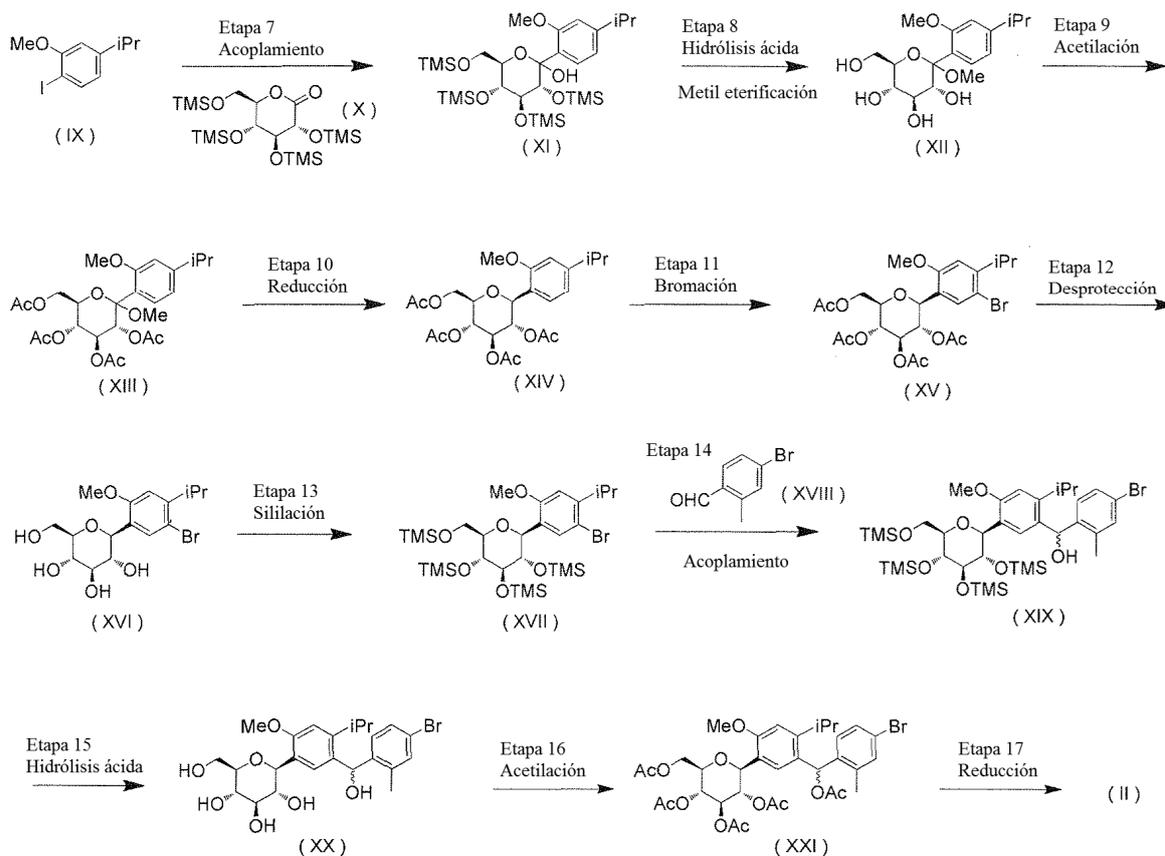
30

Método para producir el intermedio (II)

Se mostrará a continuación un método para producir el intermedio (II) necesario para la preparación del compuesto (I) de la presente invención.

35

[Fórmula química 4]



(7) Etapa 7 (acoplamiento)

5 El compuesto (IX) puede tratarse con un reactivo organometálico (por ejemplo, *n*-butil-litio, *sec*-butil-litio, *terc*-butil-litio) para preparar un reactivo de aril-litio. Al reactivo resultante, puede añadirse gluconolactona (X) para proporcionar el compuesto (XI). Los ejemplos de un disolvente para su uso en la reacción incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico y tolueno. La temperatura de reacción es de -80°C a temperatura ambiente, preferentemente de -78°C a -25°C.

10

(8) Etapa 8 (hidrólisis ácida y metil eterificación)

Junto con la eliminación de los grupos sililo del compuesto (XI) en metanol en condiciones ácidas, la posición 1 del resto de azúcar puede ser metil-eterificada para proporcionar el compuesto (XII). Los ejemplos de un ácido utilizado para este propósito incluyen ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico y *p*-toluenosulfonato de piridinio. Aunque la temperatura de reacción variará dependiendo del ácido que se utilice, es de 0°C a 100°C, preferentemente de 25°C a 80°C.

15

(9) Etapa 9 (acetilación)

20

Los grupos hidroxilo del compuesto (XII) pueden estar protegidos con grupos acetilo para proporcionar el compuesto (XIII). El compuesto (XII) puede hacerse reaccionar con, por ejemplo, anhídrido acético o cloruro de acetilo en un disolvente en presencia de una base adecuada para proporcionar el compuesto (XIII). Los ejemplos del disolvente para su uso en la reacción incluyen cloroformo, diclorometano, dioxano, acetato de etilo, tetrahidrofurano y N,N-dimetilformamida. Como la base pueden utilizarse, trietilamina, colidina, piridina o similares. Como un catalizador para la reacción también puede utilizarse 4-dimetilaminopiridina. La temperatura de reacción en este caso es de 0°C a temperatura ambiente.

25

(10) Etapa 10 (reducción)

30

El compuesto (XIII) puede hacerse reaccionar con Et<sub>3</sub>SiH, *i*-Pr<sub>3</sub>SiH, *t*-BuMe<sub>2</sub>SiH o Ph<sub>2</sub>SiHCl, se hacen reaccionar en presencia de un ácido para proporcionar el compuesto (XIV). Los ejemplos del ácido utilizado en esta reacción incluyen BF<sub>3</sub>•OEt<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>COOH, InCl<sub>3</sub>, TiCl<sub>4</sub>, TEMOTf, ácido *p*-toluenosulfónico y ácido metanosulfónico. Como un disolvente se nombra cloroformo, diclorometano, tolueno, tetrahidrofurano, acetonitrilo o una mezcla de disolventes de los mismos y se prefiere una mezcla de disolventes de acetonitrilo y otro u otros disolventes, tal como

35

acetonitrilo/cloroformo, acetonitrilo/diclorometano, acetonitrilo/tetrahidrofurano o acetonitrilo/tetrahidrofurano/tolueno. La temperatura de reacción en este caso es de -60°C a 25°C, preferentemente de -30°C a 25°C.

(11) Etapa 11 (bromación)

5 El compuesto (XIV) puede hacerse reaccionar con bromo, N-bromosuccinimida, bromuro de hidrógeno o similares en una solución para proporcionar el compuesto (XV). Los ejemplos de un disolvente para su uso en la reacción incluyen cloroformo, diclorometano, ácido acético, metanol y N,N-dimetilformamida. La temperatura de reacción en este caso es de 0°C a temperatura ambiente.

10 (12) Etapa 12 (desprotección)

15 Los grupos acetilo del compuesto (XV) pueden eliminarse en condiciones básicas para proporcionar el compuesto (XVI). Como la base pueden utilizarse, metóxido de sodio, hidróxido de sodio, hidróxido de litio, carbonato de potasio, carbonato de cesio, trietilamina o similares. Como un disolvente pueden utilizarse, metanol, etanol, metanol acuoso disolvente o similares. La temperatura de reacción en este caso es de 0°C a 60°C.

(13) Etapa 13 (sililación)

20 Los grupos hidroxilo del compuesto (XVI) pueden estar protegidos con grupos sililo tales como grupos trimetilsililo para proporcionar el compuesto (XVII). El compuesto (XVI) puede hacerse reaccionar con cloruro de trimetilsililo, cloruro de trietilsililo, cloruro de *tert*-butildimetilsililo o similares en un disolvente en presencia de una base adecuada para proporcionar el compuesto (XVII). Los ejemplos del disolvente para su uso en la reacción incluyen cloroformo, diclorometano, dioxano, acetato de etilo, tetrahidrofurano y N,N-dimetilformamida. Como la base pueden utilizarse, trietilamina, colidina, piridina o similares. La temperatura de reacción en este caso es de 0°C a temperatura ambiente.

(14) Etapa 14 (acoplamiento)

30 El compuesto (XVII) puede tratarse con un reactivo organometálico (por ejemplo, *n*-butil-litio, *sec*-butil-litio, *tert*-butil-litio) para preparar un reactivo de aril-litio. Al reactivo resultante, puede añadirse aldehído (XVIII) para proporcionar el compuesto (XIX). Los ejemplos de un disolvente para su uso en la reacción incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico y tolueno. La temperatura de reacción es de -80°C a la temperatura ambiente, preferentemente de -78°C a -25°C.

35 (15) Etapa 15 (hidrólisis ácida)

El compuesto (XIX) obtenido anteriormente puede convertirse en el compuesto (XX) mediante el mismo método que el de la reacción de hidrólisis ácida descrita en la etapa 8 del método de producción 3.

40 (16) Etapa 16 (acetilación)

El compuesto (XX) obtenido anteriormente puede convertirse en el compuesto (XXI) mediante la reacción de acetilación descrita en la etapa 9 del método de producción 3.

45 (17) Etapa 17 (reducción)

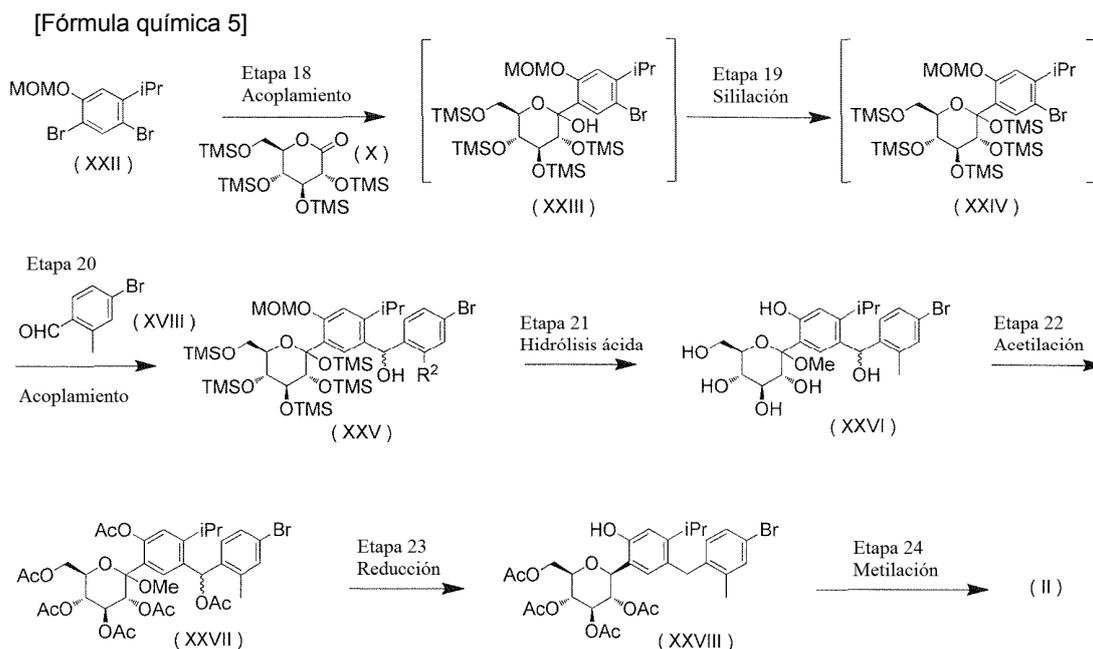
El compuesto (XXI) obtenido anteriormente puede convertirse en el intermedio (II) mediante la reacción de reducción descrita en la etapa 10 del método de producción 3.

50 Método de producción 4

Método para producir el intermedio (II)

55 El intermedio (II) también puede sintetizarse mediante otra vía como se muestra a continuación. En esta vía, las etapas 18 a 20 pueden llevarse a cabo en un solo recipiente para reducir así el número de etapas.

Los símbolos que se muestran allí tienen los mismos significados que aquellos presentados anteriormente.



## (18) Etapa 18 (acoplamiento)

5

El compuesto (XXII) puede tratarse con un reactivo organometálico (por ejemplo, *n*-butil-litio, *sec*-butil-litio, *terc*-butil-litio) para preparar un reactivo de aril-litio. Al reactivo resultante, puede añadirse gluconolactona (X) para proporcionar el compuesto (XXIII). Los ejemplos de un disolvente para su uso en la reacción incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico y tolueno. La temperatura de reacción es de  $-80^{\circ}\text{C}$  a la temperatura ambiente, preferentemente de  $-78^{\circ}\text{C}$  a  $-25^{\circ}\text{C}$ .

10

## (19) Etapa 19 (sililación)

15

Posteriormente a la etapa 18 anterior, el grupo hidroxilo en la posición 1 del compuesto (XXIII) puede protegerse con un grupo sililo tal como un grupo trimetilsililo. El cloruro de trimetilsililo se hace reaccionar con la mezcla de reacción de la etapa 18 para proporcionar el compuesto (XXIV). El disolvente utilizado en la reacción y la temperatura de reacción son los mismos que aquellos de la etapa 18.

20

## (20) Etapa 20 (acoplamiento)

Posteriormente a la etapa 19 anterior, el compuesto (XXIV) generado de este modo puede tratarse con un reactivo organometálico (por ejemplo, *n*-butil-litio, *sec*-butil-litio, *terc*-butil-litio) para preparar un reactivo de aril-litio. Al reactivo resultante, puede añadirse aldehído (XVIII) para proporcionar el compuesto (XXV). El disolvente utilizado en la reacción y la temperatura de reacción son los mismos que aquellos de la etapa 18.

25

## (21) Etapa 21 (hidrólisis ácida)

30

El compuesto (XXV) obtenido anteriormente puede convertirse en el compuesto (XXVI) mediante la reacción de hidrólisis ácida descrita en la etapa 8 de método de producción 3.

## (22) Etapa 22 (acetilación)

35

El compuesto (XXVI) obtenido anteriormente puede convertirse en el compuesto (XXVII) mediante la reacción de acetilación descrita en la etapa 9 de método de producción 3.

## (23) Etapa 23 (reducción)

40

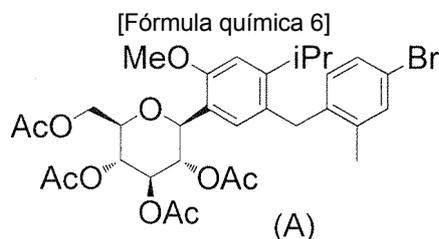
El compuesto (XXVII) obtenido anteriormente puede convertirse en el compuesto (XXVIII) mediante la reacción de reducción descrita en la etapa 10 del método de producción 3.

## (24) Etapa 24 (alquilación)

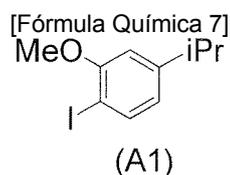
El grupo hidroxilo del compuesto (XXVIII) puede metilarse para preparar el intermedio (II). El compuesto (XXVIII) puede hacerse reaccionar con yoduro de metilo en un disolvente en presencia de una base adecuada para

proporcionar el intermedio (II). Los ejemplos del disolvente para su uso en la reacción incluyen cloroformo, diclorometano, tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida y acetona. Como la base pueden utilizarse carbonato de potasio, carbonato de cesio o similares.

5 Ejemplo de Referencia 1: Producción del intermedio (A)



10 (1) Etapa 1: Compuesto (A1)



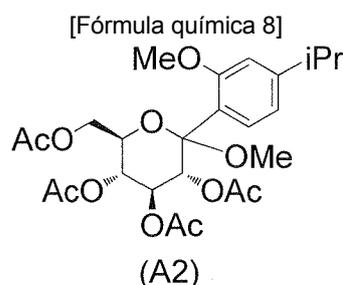
15 A una solución de 3-isopropilfenol (25,0 g, 0,184 mol) en ácido acético (200 ml), se le añadieron una suspensión de yodato de potasio (7,88 g, 0,0368 mol) en agua (75 ml) y yodo (18,7 g, 0,0736 mol). Esta mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. Después de la adición de éter dietílico (400 ml) y agua (300 ml), la capa orgánica se separó. La capa orgánica se lavó con agua, una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera, y después se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo = 95:5) para proporcionar 2-yodo-5-isopropilfenol (27,6 g, 57 %) en forma de un aceite incoloro. RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,16-1,25 (m, 6 H) 2,64-2,98 (m, 1 H) 5,21 (s, 1 H) 6,57 (dd, J = 8,13, 2,20 Hz, 1 H) 6,88 (d, J = 2,20 Hz, 1 H) 7,54 (d, J = 8,13 Hz, 1 H).

25 Se añadió yoduro de metilo (9,8 ml, 0,156 mol) a una suspensión de acetonitrilo (200 ml) de 2-yodo-5-isopropilfenol (27,4 g, 0,104 mol) y carbonato de potasio (21,7 g, 0,156 mol) y la mezcla se agitó a 40°C durante 2,5 horas. Se añadió adicionalmente yoduro de metilo (3,5 ml, 0,052 mol) y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. Los materiales insolubles se separaron por filtración y el filtrado se diluyó con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua, una solución acuosa de tiosulfato de sodio al 10 % y salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano→hexano:acetato de etilo = 95:5) para proporcionar el compuesto oleoso de color amarillo (A1) (24,5 g, 85 %).

30 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,24 (d, J = 6,84 Hz, 6 H) 2,87 (sept, J = 6,84 Hz, 1 H) 3,88 (s, 3 H) 6,58-6,65 (m, 1 H) 6,70 (d, J = 1,87 Hz, 1 H) 7,65 (d, J = 8,08 Hz, 1 H).

35 EM IEN/APCI doble positivo 277 [M+H]<sup>+</sup>.

(2) Etapa 2: Compuesto (A2)



40 A una solución del compuesto (A1) (24,5 g, 88,6<sup>o</sup>mmol) en THF (100 ml), se le añadió gota a gota una solución de *n*-butil-litio 2,6 M en hexano (34 ml, 88,6<sup>o</sup>mmol) a -78°C en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 5 minutos. Después, una solución de 2,3,4,6-tetra-O-trimetilsilil-D-glucono-1,5-lactona (37,6 g, 80,5<sup>o</sup>mmol) en THF (60 ml) se añadió gota a gota durante 25 minutos y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 10 minutos. Se añadieron hielo y agua a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se

calentó a temperatura ambiente y después se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida.

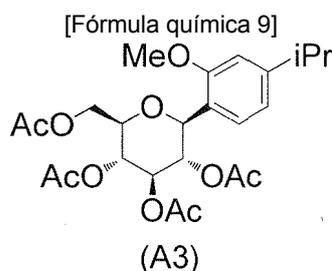
5 El residuo resultante se disolvió en una solución que contenía ácido metanosulfónico (1,55 g, 16,1<sup>o</sup>mmol) en metanol (380 ml) y la solución se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. Después, la solución se neutralizó con trietilamina (11,2 ml, 80,5<sup>o</sup>mmol) y la mezcla de reacción se concentró.

10 El residuo resultante (30,2 g) se disolvió en piridina (100 ml) y se añadió anhídrido acético (100 ml), seguido de agitación de la mezcla durante 14 horas a temperatura ambiente. Se añadió agua helada (400 ml) y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo (200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con ácido clorhídrico 1 M, una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano→hexano:acetato de etilo = 6:4) para proporcionar el compuesto oleoso de color amarillo claro (A2) (32,8 g, 80 %; 3 etapas).

15 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,23 (d, J = 6,92 Hz, 6 H) 1,84 (s, 3 H) 1,97 (s, 3 H) 2,06 (s, 3 H) 2,10 (s, 3 H) 2,87 (sept, J = 6,92 Hz, 1 H) 3,32 (s, 3 H) 3,87 (s, 3 H) 4,04 (ddd, J = 10,18, 4,74, 2,41 Hz, 1 H) 4,17-4,23 (m, 1 H) 4,28-4,36 (m, 1 H) 5,25 (dd, J = 10,18, 9,40 Hz, 1 H) 5,36 (d, J = 10,18 Hz, 1 H) 5,60 (dd, J = 10,18, 9,40 Hz, 1 H) 6,74 (d, J = 1,55 Hz, 1 H) 6,79 (dd, J = 8,08, 1,55 Hz, 1 H) 7,26-7,33 (m, 1 H).

20 EM IEN/APCI Doble positivo: 533 [M+Na]<sup>+</sup>.

(3) Etapa 3: Compuesto (A3)



25

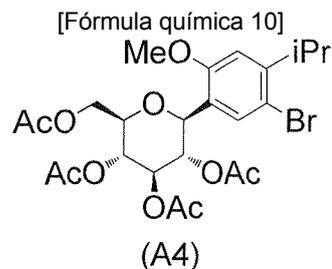
A una solución del compuesto (A2) (32,8 g, 64,0<sup>o</sup>mmol) en cloroformo (150 ml) y acetonitrilo (150 ml), se le añadieron Et<sub>3</sub>SiH (21 ml, 128<sup>o</sup>mmol) y BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> (49 ml, 385<sup>o</sup>mmol) a 4<sup>o</sup>C en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. Una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se extrajo con cloroformo. Después, la capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo = 2:1) para proporcionar el compuesto gomoso de color amarillo claro (A3) (22,9 g, 74 %).

35 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,22 (d, J = 6,96 Hz, 6 H) 1,77 (s, 3 H) 2,01 (s, 3 H) 2,05 (s, 3 H) 2,07 (s, 3 H) 2,87 (sept, J = 6,96 Hz, 1 H) 3,80-3,87 (m, 1 H) 3,84 (s, 3 H) 4,9-4,16 (m, 1 H) 4,22-4,29 (m, 1 H) 4,88-4,95 (m, 1 H) 5,18-5,27 (m, 1 H) 5,32-5,38 (m, 2 H) 6,71 (d, J = 1,55 Hz, 1 H) 6,83 (dd, J = 7,93, 1,55 Hz, 1 H) 7,23-7,30 (m, 1 H). EM IEN/APCI Doble positivo: 503 [M+Na]<sup>+</sup>.

40 EM IEN/APCI Doble negativo 515 [M+Cl]<sup>-</sup>.

40

(4) Etapa 4: Compuesto (A4)



45

A una solución del compuesto (A3) (22,9 g, 47,6<sup>o</sup>mmol) en ácido acético (90 ml), se le añadió gota a gota bromo (2,4 ml, 47,6<sup>o</sup>mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y se vertió en una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (400 ml). La mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo y la capa orgánica combinada se lavó con una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante

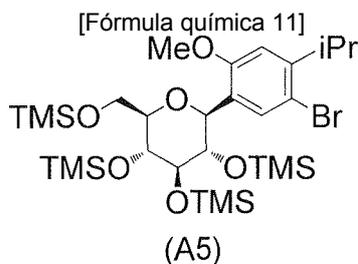
50

destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo = 3:2) para proporcionar el compuesto (A4) (25,5 g, 96 %).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CLOROFORMO- $d$ )  $\delta$  ppm 1,20 (d,  $J = 6,84$  Hz, 3 H) 1,23 (d,  $J = 6,84$  Hz, 3 H) 1,80 (s, 3 H) 2,01 (s, 3 H) 2,05 (s, 3 H) 2,09 (s, 3 H) 3,31 (sept,  $J = 6,84$  Hz, 1 H) 3,77-3,82 (m, 1 H) 3,83 (s, 3 H) 4,10-4,17 (m, 1 H) 4,22-4,30 (m, 1 H) 4,83 (d,  $J = 9,48$  Hz, 1 H) 5,17-5,38 (m, 3 H) 6,75 (s, 1 H) 7,49 (s, 1 H).

EM IEN/APCI Doble positivo: 581  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 583  $[\text{M}+2+\text{Na}]^+$ .

(5) Etapa 5: Compuesto (A5)



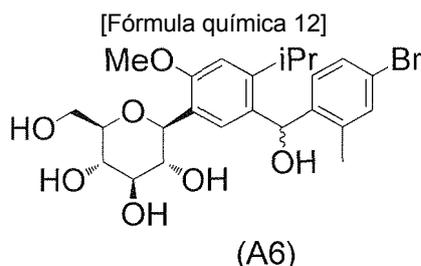
A una solución del compuesto (A4) (25,5 g, 45,6 $^{\circ}$ mmol) en metanol (100 ml), se le añadió metóxido de sodio (4,88 M/MeOH, 0,47 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se añadió hielo seco para la neutralización. Después, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida.

El residuo resultante se disolvió en N,N-dimetilformamida (135 ml), y se añadieron trietilamina (45 ml, 319 $^{\circ}$ mmol) y clorotrimetilsilano (35 ml, 274 $^{\circ}$ mmol) a 4 $^{\circ}$ C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se añadió agua helada (300 ml). Esta mezcla se extrajo tres veces con tolueno y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida para proporcionar el compuesto oleoso (A5) (32,2 g). Este compuesto se utilizó para la siguiente reacción sin purificar.

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CLOROFORMO- $d$ )  $\delta$  ppm -0,32 (s, 9 H) 0,09 (s, 9 H) 0,18 (s, 9 H) 0,20 (s, 9 H) 1,19 (d,  $J = 6,84$  Hz, 3 H) 1,23 (d,  $J = 6,84$  Hz, 3 H) 3,26-3,44 (m, 3 H) 3,52-3,58 (m, 2 H) 3,65-3,75 (m, 1 H) 3,76-3,83 (m, 1 H) 3,80 (s, 3 H) 4,60 (d,  $J = 8,55$  Hz, 1 H) 6,72 (s, 1 H) 7,51 (s, 1 H).

EM IEN/APCI Doble positivo: 701 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 703 $[\text{M}+2+\text{Na}]^+$ .

(6) Etapa 6: Compuesto (A6)



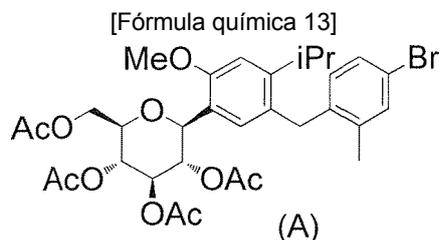
A una solución del compuesto (A5) (30,3 g, 44,5 $^{\circ}$ mmol) en THF (200 ml), se le añadió gota a gota una solución de *n*-butil-litio en hexano 2,6 M (16,9 ml, 44,5 $^{\circ}$ mmol) durante 3 minutos a -78 $^{\circ}$ C en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 10 minutos. Después, una solución de 4-bromo-2-metilbenzaldehído (9,7 g, 49,0 $^{\circ}$ mmol) en THF se añadió gota a gota durante 15 minutos y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 15 minutos. Se añadió agua (100 ml) a la mezcla de reacción. Esta mezcla se calentó a temperatura ambiente y después se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida.

El residuo resultante se disolvió en una solución que contenía ácido metanosulfónico (0,855 g) en metanol (200 ml) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. Después de la neutralización con trietilamina, la mezcla de reacción se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo:metanol = 10:1 $\rightarrow$ 8:1) para proporcionar el compuesto amorfo incoloro (A6) (14,7 g, 60 %).

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CLOROFORMO- $d$ )  $\delta$  ppm 1,23 y 1,25 (cada uno d,  $J = 6,84$  Hz, 6 H) 1,80 (s, 2 H) 2,27 y 2,29 (cada uno s, 3 H) 2,30-2,58 (m, 2 H) 2,82-3,06 (m, 2 H) 3,34 y 3,35 (cada uno s, 3 H) 3,38-3,86 (m, 6 H) 4,56-4,73 (m, 1 H) 5,53 (d,  $J = 3,11$  Hz, 1 H) 6,75-7,35 (m, 5 H).

EM IEN/APCI Doble positivo: 493  $[\text{M}-\text{OH}]^+$ , 495  $[\text{M}+2-\text{OH}]^+$

## (7) Etapa 7: Intermedio (A)



5

El compuesto (A6) (14,7 g, 28,7 $\mu$ mol) se disolvió en piridina (90 ml). Se añadió anhídrido acético (45 ml) a la solución resultante y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. Después de la adición de agua helada (500 ml), la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo (500 ml). La capa orgánica combinada se lavó con ácido clorhídrico 2 M y salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida para proporcionar un producto en bruto.

10

A una solución de este producto en bruto (17,5 g) en cloroformo (125 ml) y acetonitrilo (125 ml), se le añadieron Et<sub>3</sub>SiH (5,8 ml, 36,5 $\mu$ mol) y BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (4,6 ml, 36,5 $\mu$ mol) a 4 $^{\circ}$ C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 0,5 horas. Una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio se añadió a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se extrajo con cloroformo. Después, la capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo = 2:1) para proporcionar el intermedio incoloro amorfo (A) (14,2 g, 88 %).

15

20

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d)  $\delta$  ppm 1,11 (d, J = 6,68 Hz, 3 H) 1,14 (d, J = 6,68 Hz, 3 H) 1,75 (s, 3 H) 1,99 (s, 3 H) 2,04 (s, 3 H) 2,05 (s, 3 H) 2,28 (s, 3 H) 2,90 (sept, J = 6,68 Hz, 1 H) 3,71-3,90 (m, 3 H) 3,86 (s, 3H) 4,5-4,15 (m, 1 H) 4,19 a 4,28 (m, 1 H) 4,77-4,85 (m, 1 H) 5,11 hasta 5,23 (m, 1 H) 5,26-5,37 (m, 2 H) 6,54 (d, J = 8,24 Hz, 1 H) 6,81 (s, 1 H) 6,96 (s, 1 H) 7,17 (dd, J = 8,24, 2,64 Hz, 1 H) 7,32 (d, J = 2,64 Hz, 1 H).

25

EM IEN/APCI Doble positivo: 685 [M+Na]<sup>+</sup>, 687 [M+2+Na]<sup>+</sup>.

## Ejemplo de referencia 2: Producción del compuesto intermedio (A)

30

A una solución de 3-isopropilfenol (160 g, 1,18 mol) en ácido acético (1,6 l), se le añadió gota a gota una solución de bromo (469 g, 2,94 mol) en ácido acético (320 ml) durante 32 minutos, con enfriamiento en hielo de manera que la temperatura interna no superó los 19 $^{\circ}$ C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de la adición de tolueno (1,6 l), la mezcla se enfrió en hielo. Una solución acuosa al 10 % de sulfito de sodio (1,0 l) se añadió gota a gota de manera que la temperatura interna no superó los 20 $^{\circ}$ C, para separar la capa orgánica. La capa orgánica se lavó dos veces con una solución acuosa de sulfito de sodio al 10 % (1,0 l) y una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % (1,0 l) y después se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida para proporcionar 2,4-dibromo-5-isopropilfenol (342 g, 99 %) en forma de un aceite de color amarillo claro. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d)  $\delta$  ppm 1,21 (d, J = 6,84 Hz, 6 H) 3,25 (sept, J = 6,84 Hz, 1 H) 5,40 (s, 1 H) 6,96 (s, 1 H) 7,61 (s, 1 H).

40

A una solución de 2,4-dibromo-5-isopropilfenol (512 g, 1,74 mol) en cloroformo (1,74 l), se le añadió N,N-diisopropiletilamina (364 ml, 2,09 mol) y se enfrió en hielo. Se añadió clorometil metil éter (159 ml, 2,09 mol) gota a gota durante 60 minutos y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió en hielo y una solución acuosa de hidróxido de sodio 1 M (1,5 l) se añadió gota a gota para separar la capa orgánica. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de hidróxido de sodio 1 M (1,5 l) y agua (1,5 l) y después se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante destilación a presión reducida (de 0,93 a 1,5 hPa, de 122 $^{\circ}$ C a 137 $^{\circ}$ C) para proporcionar 1,5-dibromo-2-isopropil-4-(metoximetoxi)benceno (548 g, 96 %) en forma de un aceite de color amarillo claro.

45

50

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d)  $\delta$  ppm 1,22 (d, J = 6,84 Hz, 6 H) 3,28 (sept, J = 6,84 Hz, 1 H) 3,52 (s, 3 H) 5,23 (s, 2 H) 7,06 (s, 1 H) 7,69 (s, 1 H).

EM IEN/APCI Doble positivo: 339 [M+H]<sup>+</sup>, 341 [M+2+H]<sup>+</sup>.

55

A una solución de 1,5-dibromo-2-isopropil-4-(metoximetoxi)benceno (200 g, 0,592 mol) en tetrahidrofurano (2,84 l), se añadió después una solución de *n*-butil-litio 2,69 M en hexano (231 ml, 0,621 mol) gota a gota durante 20 minutos a desde -80 $^{\circ}$ C hasta -76 $^{\circ}$ C en una atmósfera de argón, seguido de agitación de la mezcla a la misma temperatura durante 35 minutos. Después, una solución de 2,3,4,6-tetra-O-trimetilsilil-D-glucono-1,5-lactona (290 g, 0,621 mol) en tetrahidrofurano (800 ml) se añadió gota a gota durante 55 minutos y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 50 minutos. Además, se añadió trimetilclorosilano (75,7 ml, 0,621 mol) gota a gota durante 15 minutos y la

mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas. Después, una solución de *n*-butil-litio 2,69 M en hexano (319 ml, 0,858 mol) se añadió gota a gota durante 29 minutos y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 40 minutos. Finalmente, una solución de 4-bromo-2-metilbenzaldehído (130 g, 0,651 mol) en tetrahidrofurano (800 ml) se añadió gota a gota durante 54 minutos y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 30 minutos.

5 Se añadió agua (2,85 l) a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente. Se añadió tolueno (2,0 l) para separar la capa orgánica y el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida.

El residuo resultante (546 g) se disolvió en metanol (3,0 l) y se añadió ácido metanosulfónico (3,84 ml, 0,0592 mol), seguido de calentamiento a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y después se neutralizó con trietilamina (25 ml, 0,179 mol) y la mezcla de reacción se concentró. El concentrado se disolvió en tolueno (1,0 l) y se lavó con agua (0,5 l, 1,0 l). A la capa orgánica, se le añadieron una solución acuosa de hidróxido de sodio 1 M (0,6 l) y tolueno (1,0 l) para la extracción, para separar la capa acuosa. La capa acuosa se lavó con tolueno (0,5 l). A la capa acuosa, se le añadió ácido clorhídrico al 10 % (0,7 l) y la mezcla se extrajo con tolueno (1,0 l). La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % (1,0 l) y agua (0,5 l) y el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida.

10

15

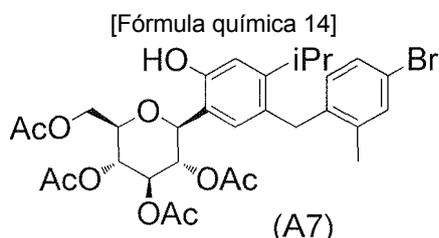
El residuo resultante (314 g) se disolvió en piridina (1,0 l) y se añadió anhídrido acético (0,8 l, 8,51 mol), seguido de agitación de la mezcla durante 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió en hielo y se añadieron hielo (1,5 l) y tolueno (1,0 l) y la mezcla se agitó durante 3 horas. La capa orgánica se separó y después la capa acuosa se extrajo con tolueno (1,0 l). La capa orgánica combinada se lavó con ácido clorhídrico 2 M (1,5 l) dos veces y adicionalmente con una solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio al 5 % (1,0 l) y una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % (1,0 l), después de lo cual el disolvente se destiló a presión reducida.

20

El residuo resultante (350 g) se disolvió en acetonitrilo (3,4 l) y se añadieron agua (9,1 ml, 0,506 mol) y Et<sub>3</sub>SiH (328 ml, 2,05 mol) a la solución. Con enfriamiento en hielo de la mezcla, se añadió TEMOTf (403 ml, 2,23 mol) gota a gota durante 85 minutos. La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas y después una solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio al 3 % (1,92 l) se añadió gota a gota durante 40 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno (1,0 l) y se agitó durante 15 minutos, después de lo cual la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con tolueno (1,5 l). La capa orgánica combinada se lavó con una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (1,50 l) y el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida para proporcionar el compuesto incoloro líquido (A7) (392 g).

25

30



35 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,9-1,19 (m, 6 H) 1,69 (s, 3 H) 1,99 (s, 3 H) 2,05 (s, 3 H) 2,12 (s, 3 H) 2,25 (s, 3 H) 2,80-2,97 (m, 1 H) 3,66-3,96 (m, 3 H) 4,08-4,35 (m, 2 H) 4,42-4,57 (m, 1 H) 5,19-5,37 (m, 3 H) 6,52 (s, 1 H) 6,57 (d, J = 8,1 Hz, 1 H) 6,87 (s, 1 H) 7,12-7,20 (m, 1 H) 7,30-7,33 (m, 1 H).

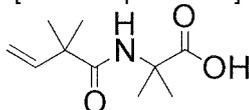
40 Una solución de yoduro de metilo (33 ml, 0,53 mol) en N,N-dimetilformamida (50 ml) se añadió gota a gota a una suspensión del compuesto (A7) (392 g, 0,506 mol) y carbonato de potasio (73,4 g, 0,531 mol) en N,N-dimetilformamida (0,95 l). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y luego se añadieron carbonato de potasio (70,0 g, 0,506 mol) y yoduro de metilo (31,5 ml, 0,506 mol), seguido de agitación de la mezcla durante 1 hora. Se añadieron carbonato de potasio (70,0 g, 0,506 mol) y yoduro de metilo (31,5 ml, 0,506 mol) de nuevo y la mezcla se agitó durante 1 hora. Se añadió yoduro de metilo (15,8 ml, 0,254 mol) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 50°C durante 2 horas y después se diluyó con tolueno (1,25 l), después de lo cual se añadió agua (1,0 l). Se separaron dos capas y la capa orgánica se lavó con agua (1,0 l) dos veces y con una solución acuosa al 10 % de cloruro de sodio (1,0 l) y después se concentró a presión reducida. Se añadió alcohol isopropílico (350 ml) al residuo resultante y la mezcla se disolvió con calentamiento a 40°C, después de lo cual la solución se agitó a temperatura ambiente. El precipitado resultante se separó por filtración y se secó para proporcionar el intermedio (A) (155 g, 46 %) en forma de un polvo incoloro.

45

50

Ejemplo de referencia 3: Producción del compuesto intermedio (B)

[Fórmula química 15]

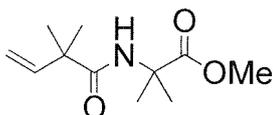


(B)

(1) Etapa 1: Compuesto (B1)

5

[Fórmula química 16]



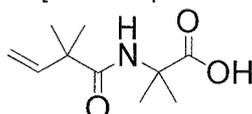
(B1)

- 10 A una solución de ácido 2,2-dimetil-3-butenico (*J. Org. Chem.*, Vol. 65, pág. 8402, 2000) (5,42 g, 47,5 $^{\circ}$ mmol) en cloroformo (250 ml), se le añadieron cloruro de oxalilo (4,43 ml, 49,9 $^{\circ}$ mmol) y N,N-dimetilformamida (3 gotas) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Luego, la mezcla de reacción se enfrió en hielo y se añadieron trietilamina (19,9 ml, 143 $^{\circ}$ mmol) y clorhidrato del éster metílico del ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico (10,9 g, 71,2 $^{\circ}$ mmol), seguido de agitación de la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se
- 15 añadió agua a la mezcla de reacción y la mezcla resultante se extrajo con cloroformo. Después, la capa orgánica se lavó con ácido clorhídrico 3 M, una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano $\rightarrow$ hexano:acetato de etilo = 4:1) para proporcionar el compuesto en polvo incoloro (B1) (9,38 g, 93 %)
- 20 RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CLOROFORMO-d)  $\delta$  ppm 1,27 (s, 6 H) 1,51 (s, 6 H) 3,73 (s, 3 H) 5,17-5,32 (m, 2 H) 6,02 (dd, J = 17,56, 10,57 Hz, 1 H) 6,25 (s, 1 H).  
EM IEN/APCI Doble positivo: 214 [M+H] $^{+}$ .

(2) Etapa 2: Compuesto intermedio (B)

25

[Fórmula química 17]

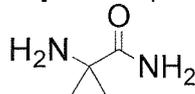


(B)

- 30 Una solución acuosa de hidróxido de sodio 4 M (16,5 ml, 66,0 $^{\circ}$ mmol) se añadió a una solución del compuesto (B1) (9,38 g, 43,9 $^{\circ}$ mmol) en metanol (20 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después, la mezcla de reacción se concentró. El residuo resultante se disolvió en agua y la solución se neutralizó con la adición de ácido clorhídrico 3 M. Esta mezcla se extrajo con acetato de etilo y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida para proporcionar intermedio en polvo incoloro (B)
- 35 (8,19 g, 94 %).  
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CLOROFORMO-d)  $\delta$  ppm 1,29 (s, 6 H) 1,54 (s, 6 H) 5,16-5,36 (m, 2 H) 6,01 (dd, J = 17,49, 10,65 Hz, 1 H) 6,14 (s, 1 H).  
EM IEN/APCI Doble positivo: 200 [M+H] $^{+}$ , 222 [M+Na] $^{+}$ .  
EM IEN/APCI Doble negativo: 198 [M-H] $^{-}$ .
- 40

Ejemplo de referencia 4: Producción del intermedio (C)

[Fórmula química 18]



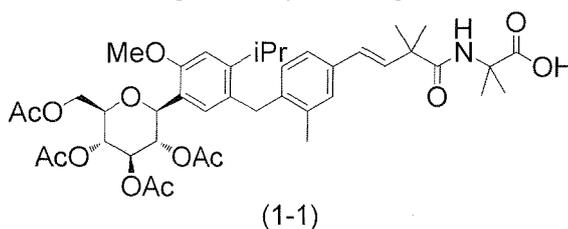
(C)

A una solución de ácido 2-((benciloxicarbonil)amino)-2-metilpropiónico (10,0 g, 42,2°mmol) en acetonitrilo (200 ml), se le añadieron dicarbonato de di-*terc*-butilo (12 ml, 55,3°mmol), carbonato de amonio (4,0 ml, 50,6°mmol) y piridina (2,6 ml, 32,1°mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se concentró. Los sólidos resultantes se lavaron con agua y se secaron para obtener un polvo incoloro (9,8 g). Este polvo (5,0 g) se disolvió en metanol (100 ml) y se añadió Pd-C al 5 % (0,5 g). Esta mezcla se agitó durante 3,5 horas en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite (marca registrada) y después el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida para proporcionar el intermedio (C) (1,7 g).  
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,15 (s, 6 H) 1,64-1,95 (s a, 2 H) 6,68-6,93 (s a, 1 H) 7,11-7,40 (s a, 1H).

### 10 Ejemplo 1: Síntesis del compuesto (I)

(1)Etapa 1: Compuesto (1-1)

[Fórmula química 19]



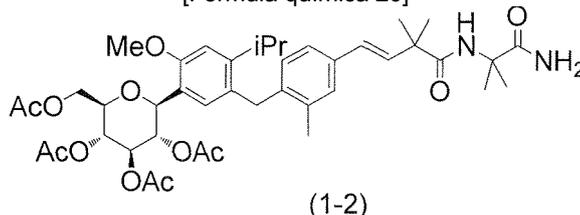
15

En una atmósfera de argón, una suspensión del intermedio (A) (2,0 g, 3,0°mmol), el intermedio (B) (1,08 g, 5,4°mmol), acetato de paladio(II) (136 mg, 0,60°mmol), tri-*o*-tolilfosfina (370 mg, 1,20°mmol) y trietilamina (1,26 ml, 9,00°mmol) en acetonitrilo (10 ml) se agitó a 120°C durante 20 minutos en irradiación de microondas. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite (marca registrada) y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:acetato de etilo = 1:1→acetato de etilo) para proporcionar el compuesto en polvo de color amarillo claro (1-1) (2,03 g, 87 %).  
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,17, 1,14 (cada uno d, J = 6,99 Hz, 3 H) 1,38 (s, 6 H) 1,55 (s, 6 H) 1,76 (s, 3 H) 1,98 (s, 3 H) 2,04 (s, 6 H) 2,30 (s, 3 H) 2,94-3,03 (m, 1 H) 3,76-3,83 (m, 1 H) 3,84-3,95 (m, 4 H) 4,06-4,15 (m, 1 H) 4,16-4,25 (m, 1 H) 4,74-4,89 (m, 1 H) 5,12-5,20 (m, 1 H) 5,23-5,35 (m, 2 H) 6,29 (s, 1H) 6,31 (d, J = 16,32 Hz, 1 H) 6,52 (d, J = 16,32 Hz, 1 H) 6,67 (d, J = 8,08 Hz, 1 H) 6,81 (s, 1 H) 6,94 (s, 1 H) 7,06-7,14 (m, 1 H) 7,24 (s, 1 H).  
EM IEN/APCI Doble positivo: 782 [M+H]<sup>+</sup>, 804 [M+Na]<sup>+</sup>.  
EM IEN/APCI Doble negativo: 780 [MH]<sup>-</sup>.

30

(2) Etapa 2: Compuesto (1-2)

[Fórmula química 20]



35

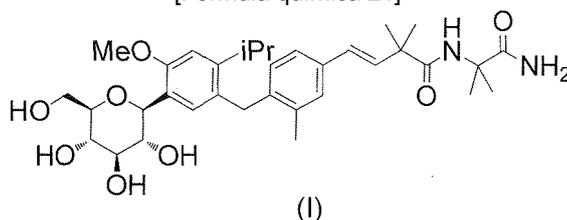
A una solución del intermedio (1-1) (100 mg, 0,128°mmol), HOBT·H<sub>2</sub>O (29,4 mg, 0,192°mmol) y una solución acuosa de amoníaco al 28 % (23,3 mg, 0,384°mmol) en N,N-dimetilformamida (1,2 ml), se les añadió EDC-HCl (36,8 mg, 0,192°mmol) y la mezcla se agitó durante 15 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en agua (50 ml) y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (20 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo→cloroformo:metanol = 9:1) para proporcionar el compuesto amorfo incoloro (1-2) (58 mg, 58 %).  
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,10-1,17 (m, 6 H) 1,38 (s, 6 H) 1,52 (s, 6 H) 1,77 (s, 3 H) 1,99 (s, 3 H) 2,04 (s, 3 H) 2,04 (s, 3 H) 2,32 (s, 3 H) 2,95 (sept, J = 6,9 Hz, 1 H) 3,76-3,95 (m, 6 H) 4,8-4,14 (m, 1 H) 4,18-4,26 (m, 1 H) 4,79-4,85 (m, 1 H) 5,13-5,22 (m, 1 H) 5,27-5,36 (m, 2 H) 6,29 (d, J = 16,3 Hz, 1 H) 6,51 (d, J = 16,3 Hz, 1 H) 6,66 (d, J = 7,9 Hz, 1 H) 6,81 (s, 1 H) 6,98 (s, 1 H) 7,09 (dd, J = 7,9, 1,4 Hz, 1 H) 7,23 (d, J = 1,4 Hz, 1 H).

45

(3) Etapa 3: Compuesto (I)

50

[Fórmula química 21]



5 A una solución del compuesto (1-2) (52 mg, 0,066<sup>o</sup>mmol) en metanol (0,5 ml), se le añadió metóxido de sodio (4,88 M/MeOH, 15  $\mu$ l) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. Una pequeña cantidad de hielo seco se añadió para neutralizar la mezcla de reacción. Después, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida

10 El residuo resultante se purificó por cromatografía en gel de sílice tipo NH (cloroformo:metanol = 85:15) para proporcionar el compuesto amorfo incoloro (I) (40 mg, 98 %).

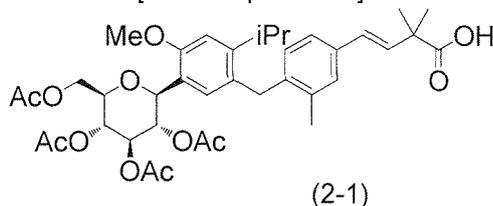
RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, METANOL-d<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 1,13-1,16 (m, 6 H) 1,35 (s, 6 H) 1,50 (s, 6 H) 2,32 (s, 3 H) 2,95-3,03 (m, 1 H) 3,32-3,38 (m, 2 H) 3,44-3,48 (m, 1 H) 3,49-3,54 (m, 1 H) 3,59-3,63 (m, 1 H) 3,80-3,86 (m, 4 H) 3,91 (s, 2 H) 4,61 (d, J = 9,6 Hz, 1 H) 6,37 (d, J = 16,0 Hz, 1 H) 6,50 (d, J = 16,0 Hz, 1 H) 6,74 (d, J = 7,8 Hz, 1 H) 6,92 (s, 1 H) 7,07 (s, 1 H) 7,11 (d, J = 7,8 Hz, 1 H) 7,25 (s, 1 H) 7,29 (s, 1 H).

15 EM IEN/APCI Doble positivo: 613 [M+H]<sup>+</sup>, 635 [M+Na]<sup>+</sup>.  
EM IEN/APCI Doble negativo: 611 [M-H]<sup>-</sup>, 647 [M+Cl]<sup>-</sup>.

### Ejemplo 2: Síntesis del compuesto (I)

20 Etapa 1: Compuesto (2 -1)

[Fórmula química 22]



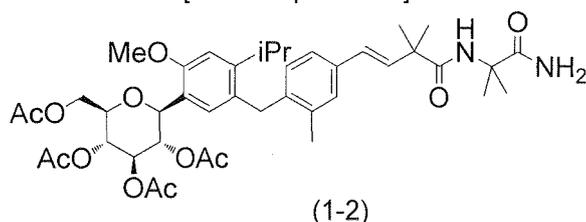
25 En una atmósfera de argón, una suspensión del intermedio (A) (100 g, 0,151 mol), ácido 3-butenoico-2,2-dimetil (25,8 g, 0,226 mol), acetato de paladio(II) (3,39 g, 15,1<sup>o</sup>mmol), tri-*o*-tolilfosfina (9,16 g, 30,1<sup>o</sup>mmol) y trietilamina (63 ml) en acetonitrilo (300 ml) se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, después se diluyó con cloroformo (300 ml) y metanol (100 ml) y se filtró a través de Celite (marca registrada). El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo resultante se disolvió en acetato de etilo (1,32 l).

30 La solución se lavó con ácido clorhídrico 1 M (0,96 l) y una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % (1,2 l) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El desecante se separó por filtración, después de lo cual se añadió isopropilamina (13,0 ml, 0,151 mol) al filtrado y la mezcla se agitó a temperatura ambiente a 0<sup>o</sup>C durante 1 hora. El precipitado resultante se filtró para proporcionar una sal de isopropilamina del compuesto intermedio (2-1). Esta sal se disolvió en acetato de etilo (1,2 l) y ácido clorhídrico 1 M (500 ml) y la solución se agitó durante 30 minutos para separar la capa orgánica. La capa orgánica se lavó con una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % (500 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida para obtener el compuesto amorfo incoloro (2-1) (113 g).

40 RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CLOROFORMO-d)  $\delta$  ppm 1,12 (d, J = 6,9 Hz, 3 H) 1,13 (d, J = 6,9 Hz, 3 H) 1,43 (s, 6 H) 1,75 (s, 3 H) 1,99 (s, 3 H) 2,2-2,7 (m, J = 1,8 Hz, 6 H) 2,29 (s, 3 H) 2,85-3,02 (m, 1 H) 3,77-3,81 (m, 1 H) 3,81-3,91 (m, 5 H) 4,8-4,13 (m, 1 H) 4,21 (dd, J = 12,2, 4,4 Hz, 1 H) 4,79 (d a, J = 8,3 Hz, 1 H) 5,17 (t, J = 9,6 Hz, 1 H) 5,27 - 5,36 (m, 2 H) 6,35 (d, J = 16,3 Hz, 1 H) 6,43 (d, J = 16,3 Hz, 1 H) 6,64 (d, J = 8,3 Hz, 1 H) 6,80 (s, 1 H) 6,95 (s, 1 H) 7,06 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1 H) 7,21 (s a, 1 H).

45 (2) Etapa 2: Compuesto (1-2)

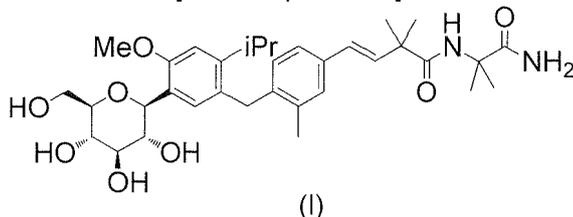
[Fórmula química 23]



A una solución del compuesto (2-1) (113 g, 0,151 mol), el intermedio (C) (23,2 g, 0,227 mol) y HOBt·H<sub>2</sub>O (34,7 g, 0,227 mol) en N,N-dimetilformamida (0,79 l), se le añadió EDC-HCl (43,4 g, 0,226 mol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se añadieron tolueno (1,0 l) y una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 % (2,0 l) a la mezcla de reacción para separar la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con tolueno (1,0 l) y la capa orgánica combinada se lavó con una solución acuosa de cloruro de sodio al 5 % (1,0 l) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Después de separar el desecante mediante filtración, el disolvente se separó mediante destilación a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo:metanol = 80:20) para proporcionar el compuesto amorfo de color amarillo claro (1-2) (108 g, 92 %).

### (3) Etapa 3: Síntesis del compuesto (I)

[Fórmula química 24]



Se disolvió el compuesto (1-2) (107 g, 0,137 mol) en metanol (0,5 l) y, después de que la disolución se enfriara en hielo, se añadieron trietilamina (0,1 l) y agua (0,1 l). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se concentró y se destiló azeotrópicamente con metanol. El residuo resultante se disolvió en metanol (0,3 l), se añadió agua (0,4 l) a la solución y la mezcla se agitó. El residuo resultante se filtró, se lavó con agua y se secó para proporcionar el compuesto en polvo incoloro (I) (70 g, 83 %).

El compuesto (I) tenía picos a  $2\theta = 11,50$  grados,  $16,10$  grados y  $20,84$  grados en la difracción de rayos X de polvo (Cu-K $\alpha$ ). Su punto de fusión era de  $135^{\circ}\text{C}$ .

### Ejemplo de ensayo 1

#### (1) Creación de células CHO-K1 que expresan de forma estable el SGLT1 humano

Un vector plásmido que expresa la proteína SGLT1 humana se transfectó en células CHO-K1 utilizando Lipofectamine 2000 (Invitrogen). Las células se cultivaron en presencia de geneticina 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para seleccionar las cepas resistentes, seguido de la detección en el sistema que se muestra a continuación utilizando la capacidad de captación de azúcares como un indicador para obtener células que expresan el SGLT1.

#### (2) La creación de células CHO-K1 que expresa de forma estable el SGLT2 humano

Un vector plásmido que expresa la proteína SGLT2 humana se transfectó en células CHO-K1 utilizando Lipofectamine LTX (Invitrogen). Las células se cultivaron en presencia de geneticina 1,000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para seleccionar las cepas resistentes, seguido de la detección en el sistema que se muestra a continuación utilizando la capacidad de captación de azúcares como un indicador para obtener células que expresan el SGLT2.

#### (3) Ensayo de inhibición de la captación de glucosa dependiente de sodio en células de expresión estable

Las células de expresión estable preparadas anteriormente se utilizaron en el siguiente ensayo.

Se añadió tampón de pretratamiento (cloruro de colina 140 mM, KCl 2 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, HEPES 10 mM/Tris 5 mM, pH 7,4) a las células de expresión estable, seguido de incubación durante 20 minutos. El tampón de pretratamiento se eliminó y se reemplazó por tampón de captación que contiene un compuesto de ensayo ( $\alpha$ -D-glucopiranosido de metilo 1 mM (que contiene [<sup>14</sup>C] $\alpha$ -D-glucopiranosido de metilo), NaCl 145 mM, KCl 2 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, HEPES 10 mM/Tris 5 mM, pH 7,4). La reacción de captación se realizó a 37°C durante 30 minutos (SGLT1) o 60 minutos (SGLT2). Después de la reacción, las células se lavaron dos veces con tampón de

lavado ( $\alpha$ -D-glucopiranosido de metilo 10°mM, cloruro de colina 140°mM, KCl 2°mM, CaCl<sub>2</sub> 1°mM, MgCl<sub>2</sub> 1°mM, HEPES 10°mM/Tris 5°mM, pH 7,4) y después se disolvieron en una solución de NaOH 0,25 M. Un centelleador líquido (Perkin Elmer) se añadió y se mezcló bien, seguido de la medición de la radiactividad utilizando un analizador de rayos  $\beta$ . Para el grupo de control, se preparó un tampón de captación que no contenía ningún compuesto de ensayo. Además, otro tampón de absorción que contenía cloruro de colina en lugar de NaCl se preparó también para la captación basal.

Para la determinación de los valores de CI<sub>50</sub>, se utilizaron los compuestos de ensayo preparados en 6 concentraciones adecuadas y sus concentraciones necesarias para una inhibición del 50 % de la cantidad de captación de azúcar (valores de CI<sub>50</sub>) se calcularon en relación a la cantidad de captación de azúcar en el grupo de control (100 %). Los resultados de los ensayos sobre el compuesto (I) se muestran en la tabla 1.

[Tabla 1]

Compuesto	CI <sub>50</sub> para hSGLT1 (nM)	CI <sub>50</sub> para hSGLT2 (nM)
(I)	65	554

### 15 Ejemplo de ensayo 2

(1) Cambios en las concentraciones renales de los compuestos 4, 10, 11 y 33 desvelados en el documento WO2007/136116 hasta una semana después de la administración oral

20 Se les administró por vía oral a ratas SD/IGS a las 7 semanas de edad (macho, no en ayunas, Charles River Laboratories Japan Inc.) el compuesto 4, 10 o 33 (1 mg/kg cada uno) o el compuesto 11 (0,3 mg/kg) preparados en una solución acuosa de CMC al 0,5 %. A las 24, 72 y 168 horas después de la administración del fármaco, las ratas se desangraron a través de la vena portocava con anestesia de éter y sus riñones se extirparon después de que se confirmara que se habían sacrificado. Después de que la superficie del tejido se lavara con solución salina fisiológica, se midió el peso de cada tejido y se homogeneizó en 4 volúmenes de agua purificada con enfriamiento en hielo. A cada homogeneizado, se le añadió una solución de acetonitrilo/metanol que contenía una sustancia patrón interna para eliminar las proteínas y después el sobrenadante se sometió a CL-EM/EM (Applied Biosystem API3000). Se detectaron los iones derivados de los fármacos, generados mediante ionización por electronebulización en modo de ion positivo, mediante monitoreo selectivo de la reacción. El área del pico del cromatograma del ion extraído resultante se analizó mediante el método del patrón interno para calcular la concentración de fármaco en el homogeneizado.

35 Como patrón interno para los compuestos 10 y 33, se utilizó etil-D<sub>5</sub> (1S)-1,5-anhidro-1-[5-(4-etoxibencil)-2-metoxi-4-metilfenil]-1-tio-D-glucitol. Como patrones internos para los compuestos 4 y 11, se utilizaron, respectivamente, el compuesto 11 y compuesto 11 marcado con deuterio (trihidroximetil-D<sub>6</sub>; -C(CD<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>).

Los resultados experimentales obtenidos se muestran en tabla 2.

40 (2) Concentraciones renales del compuesto (I) de la presente invención después de la administración por vía oral repetida durante 3 días

45 Se les administró por vía oral a ratas SD/IGS, a las 7 semanas de edad (macho, no en ayunas, Charles River Laboratories Japan Inc.), una vez al día durante 3 días consecutivos, el compuesto (I) (3 mg/kg) preparado en una solución acuosa de CMC al 0,5 %. A las 48 horas después de la administración final del fármaco, las ratas se desangraron a través de la vena portocava con anestesia de isoflurano y sus riñones se extirparon después de que se confirmara que se habían sacrificado. Después de que la superficie del tejido se lavara con solución salina fisiológica, se midió el peso de cada tejido y se homogeneizó en 4 volúmenes de agua purificada con enfriamiento en hielo. La concentración de fármaco de cada homogeneizado se determinó de la misma manera que se ha mostrado en el ejemplo de ensayo 2 (1) mediante CL-EM/EM utilizando el compuesto 11 como una sustancia patrón interno.

Los resultados experimentales se muestran en la tabla 3.

55 Ejemplo de ensayo 3: Estudio de confirmación del efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas por estreptozotocina modelo

(1) Preparación de las ratas diabéticas modelo

60 Se mantuvieron en ayunas ratas SD/IGS a las 7 semanas de edad (macho, Charles River Laboratories Japan Inc.) durante aproximadamente 16 horas y después se les inyectó estreptozotocina (STZ) 50 mg/kg a través de la vena caudal con anestesia de éter para preparar ratas diabéticas modelo. De forma similar, a otro grupo de ratas SD/IGS a las 7 semanas de edad se le inyectó ácido cítrico 1,25°mmol/l en solución salina fisiológica (1 ml/kg) a través de la vena caudal con anestesia de éter para preparar ratas de control normales. A la semana después de la inyección de la STZ o del ácido cítrico 1,25°mmol/l en solución salina fisiológica, a las ratas (de 8 semanas de edad) se les realizó

un ensayo de tolerancia oral a la glucosa.

(2) Ensayo de tolerancia oral a la glucosa

- 5 Después de que las ratas diabéticas modelo se mantuvieran en ayunas durante aproximadamente 16 horas, a los grupos experimentales se les administró a cada uno por vía oral un fármaco (1 mg/kg) disuelto en una solución acuosa de carboximetilcelulosa de sodio al 0,5 % (CMC), mientras que al grupo de control se le administró por vía oral una solución acuosa de CMC al 0,5 % sola. A los 5 minutos después de la administración del fármaco, una solución de glucosa (2 g/kg) se administró por vía oral a cada rata y la sangre se recogió en un total de 5 puntos temporales: antes de la administración del fármaco (tiempo 0) y a las 0,25, 0,5, 1 y 2 horas después de la administración oral.

15 Se recogió sangre de las venas caudales de las ratas con anestesia de éter utilizando un tubo de recogida de sangre revestido con heparina y se centrifugó, después de lo cual el plasma sanguíneo se separó. Las concentraciones plasmáticas de glucosa se cuantificaron mediante la medición con una Glucose CII-Test Wako (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japón). Para determinar la intensidad del efecto hipoglucemiante, el nivel sanguíneo de glucosa antes de la administración del fármaco se restó de cada nivel sanguíneo de glucosa medido hasta una hora después de la administración oral en cada grupo experimental y los valores resultantes se analizaron por el método trapezoidal para calcular un incremento en el área bajo la curva para la glucosa ( $\Delta AUC$ ), que se expresó como una disminución referida al  $\Delta AUC$  del grupo de control.

20 Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2 y la tabla 3.

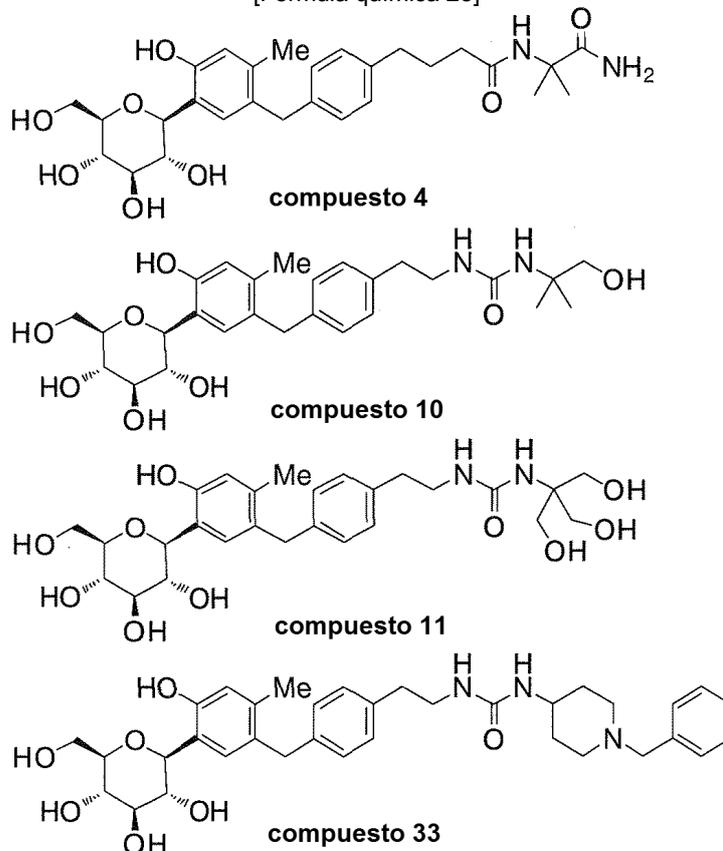
[Tabla 2]

Resultados del ensayo de tolerancia a la glucosa y concentraciones renales de los compuestos de la técnica anterior				
Nº de compuesto del documento WO2007/136116	$\Delta AUC_{0-1h}$ (mg/dl) del % de inhibición en el TTOG <sup>§</sup> en ratas STZ con 1 mg/kg por vía oral	Concentración de los compuestos en el riñón después de la administración oral única de una dosis de 1 mg/kg a ratas Sprague-Dawley macho.		
		Después de 1 día (ng/g)	Después de 3 días (ng/g)	Después de 7 días (ng/g)
compuesto 4	51	68,4 ± 7,49	85,5 ± 23,1	76,3 ± 15,5
compuesto 10	69	167 ± 36,3	124 ± 12,2	53. ± 7,6
compuesto 11	68	63,5 ± 20,1 *	67,3 ± 3,15 *	48,7 ± 18,3 *
compuesto 33	81 <sup>#</sup>	29,8 ± 6,79	25,5 ± 8,68	16,2 ± 3,11

\* El valor representa la media ± D.E. cuando el compuesto 11 se administró por vía oral (0,3 mg/kg).  
<sup>§</sup>  $AUC_{0-1h}$  de la supresión de glucosa en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina (STZ) en comparación con el control del vehículo, después de una dosis oral de 1 mg/kg.  
<sup>#</sup> TTOG usando ratas Sprague-Dawley.

25 Las estructuras de los compuestos 4, 10, 11 y 33 desvelados en el folleto de publicación de patente internacional WO2007/136116 se muestran a continuación.

[Fórmula química 25]



5

[Tabla 3]

Resultados del ensayo de tolerancia a la glucosa y concentraciones renales del compuesto de la presente invención		
Compuesto No.	$\Delta AUC_{0-1h}$ (mg/dl) del % de inhibición en el TTOG* en ratas STZ con 3 mg/kg por vía oral	Concentración de los compuestos en el riñón después de 3 días de administración oral continua de una dosis de 3 mg/kg a ratas Sprague-Dawley macho.
		Después de 2 días (ng/g)
(I)	54	ND <sup>#</sup>

\*  $AUC_{0-1h}$  de la supresión de glucosa en ratas diabéticas inducidas por STZ en comparación con el control del vehículo, después de una dosis oral de 1 mg/kg  
<sup>#</sup>ND (No determinado) significa límite de detección (5 ng/g).

10

Los compuestos desvelados en el documento WO2007/136116 mostraron una acción hipoglucemiante potente en el ensayo de tolerancia a la glucosa después de la administración por vía oral de 1 mg/kg. Después de la administración oral de 1 mg/kg, sin embargo, las velocidades de eliminación de los compuestos de dentro del riñón fueron tan lentas que los compuestos tendían a no excretarse, sino a permanecer en el riñón, incluso después de 7 días (tabla 2).

15

Por otra parte, el compuesto (I) de la presente invención tenía una acción hipoglucemiante potente, como los compuestos de la técnica anterior mencionados anteriormente. Además, este compuesto mostró un rasgo característico por el que incluso cuando se administró en una dosis de 3 mg/kg durante 3 días consecutivos, inesperadamente no permanecía en el riñón al segundo día posterior (tabla 3).

20

Una posible causa de esta diferencia es que el compuesto de la presente invención se excretó rápidamente, sin permanecer en el riñón, cuando se absorbió en el cuerpo.

Por tanto, el compuesto de la presente invención no permanece en el cuerpo y es menos probable que cause los efectos secundarios y la toxicidad debidos a la administración continua y por tanto es excelente en la aplicabilidad práctica como una preparación farmacéutica.

**Aplicabilidad industrial**

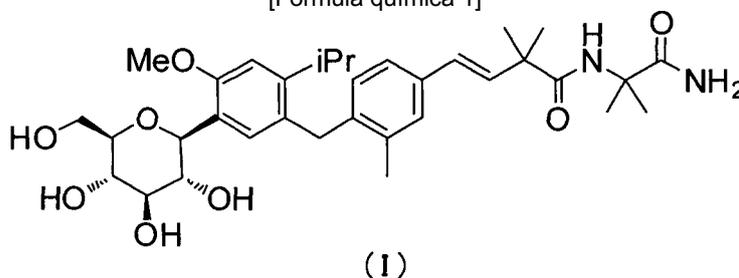
5 La presente invención permite la provisión de un fármaco para la mejora de la hiperglucemia postprandial, que tiene una fuerte actividad inhibidora del SGLT1 y no permanece en el cuerpo. La presente invención también contribuye a una mejora en la salud humana y facilita el desarrollo sano de la industria farmacéutica a través de la contribución al tratamiento y la prevención de enfermedades inducidas por la hiperglucemia postprandial contra las que la inhibición de la actividad del SGLT1 es eficaz.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol representado por la siguiente fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

5

[Fórmula química 1]



2. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido en la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como un principio activo, y un vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables.

10

3. El compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido en la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como un medicamento.

15

4. El compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido en la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la hiperglucemia postprandial.

20

5. El compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol como se ha definido en la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento o prevención de la diabetes.

6. El uso del compuesto 4-isopropil-6-metoxifenilglucitol de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de una preparación profiláctica o terapéutica para la diabetes.