

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 547 386**

51 Int. Cl.:

**C07F 9/60** (2006.01)  
**A61K 31/662** (2006.01)  
**A61K 31/675** (2006.01)  
**A61P 3/10** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**C07F 9/38** (2006.01)  
**C07F 9/40** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2008 E 08706319 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2015 EP 2114971**

54 Título: **Inhibidores de la PTP-1B aromáticos condensados**

30 Prioridad:

**26.01.2007 US 897700 P**

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

**05.10.2015**

73 Titular/es:

**KANEQ PHARMA INC. (100.0%)  
900 Etienne-Marchand  
Boucherville, QC J4B 6S5, CA**

72 Inventor/es:

**COLUCCI, JOHN;  
WILSON, MARIE-CLAIRE;  
HAN, YONGXIN;  
DUFRESNE, CLAUDE;  
BELLEY, MICHEL;  
LAU, CHEUK K. y  
BAYLY, CHRISTOPHER**

74 Agente/Representante:

**ILLESCAS TABOADA, Manuel**

**ES 2 547 386 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

Inhibidores de la PTP-1B aromáticos condensados

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a una nueva clase de derivados de ácido fosfónico que son inhibidores de la PTP-1B y que pueden ser ventajosos en el tratamiento de la diabetes de tipo 2 y otras enfermedades mediadas por la PTP-1B.

10 **Antecedentes de la invención**

Las proteínas tirosina fosfatasa son una gran familia de enzimas transmembrana o intracelulares que desfosforilan sustratos involucrados en una variedad de procesos de regulación (Fischer *et al.*, 1991, *Science* 253: 401-406). La proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B) es una proteína intracelular de ~50 kd presente en cantidades abundantes en diversos tejidos humanos (Charbonneau *et al.*, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 86: 5252-5256; Goldstein, 1993, *Receptor*. 3: 1-15)

Numerosas proteínas son sustratos de PTP-1B. Un sustrato importante es el receptor de insulina. La unión de la insulina a su receptor da como resultado la autofosforilación del receptor, más en particular en las tirosinas 1146, 1150 y 1151 en el dominio catalítico quinasa (White & Kahn, 1994, *J. Biol. Chem.* 269: 1-4.). Esto causa la activación de la tirosina quinasa del receptor de insulina, que fosforila las diversas proteínas sustrato del receptor de insulina (IRS) que propagan el evento de señalización de la insulina corriente abajo para mediar los diversos efectos biológicos de la insulina.

Kennedy *et al.*, 1999, *Science* 283: 1544-1548 demostraron que la proteína tirosina fosfatasa PTP-1B es un regulador negativo de la vía de señalización de la insulina, lo que sugiere que los inhibidores de esta enzima pueden ser beneficiosos en el tratamiento de la diabetes de tipo 2. Los ratones que carecen de la PTP-1B son resistentes tanto a la diabetes como a la obesidad.

El uso de oligonucleótidos antisentido específicos para PTP-1B en modelos animales de diabetes de tipo 2 ha proporcionado apoyo adicional para el uso de inhibidores de la PTP-1B para tratar la diabetes de tipo 2 y enfermedades relacionadas. La inhibición de la PTP-1B con oligonucleótidos antisentido en modelos animales dio como resultado la normalización de los niveles de glucosa e insulina en sangre. Zinker *et al.*, 2002, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 99: 11357.

Por tanto, se espera que los compuestos que inhiben la PTP-1B tengan utilidad para tratar y/o controlar la diabetes de tipo 2 y para mejorar la tolerancia a la glucosa en pacientes que lo necesiten. También se espera que los inhibidores de la PTP-1B sean útiles para retrasar la aparición de la diabetes en pacientes pre-diabéticos y para prevenir el desarrollo de diabetes en pacientes pre-diabéticos. Los inhibidores de la PTP-1B también deberían tener utilidad en el tratamiento de la obesidad y la dislipidemia. Los fármacos de uso humano para tratar la diabetes mediante la inhibición de la PTP-1B no se han desarrollado con éxito hasta ahora. Se necesitan nuevos compuestos químicos que inhiban la PTP-1B.

Se ha observado sobreexpresión y niveles elevados de PTP-1B en varias líneas de cáncer, incluyendo la leucemia mielógena crónica (LMC), el cáncer de mama, el cáncer de ovario y el cáncer de próstata, lo que sugiere un papel regulador de PTP-1B en el control de la actividad de quinasa en estas y otras células cancerosas. Véase, por ejemplo, Liu, *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 1996, 271: 31290-31295; Kenneth *et al.*, *Mol. Cell. Biol.*, 1998, 18: 2965-2975; Weiner *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.*, 1996, 86: 372-378. Por tanto, la inhibición de la actividad de la PTP-1B puede constituir un objetivo importante para tratar o prevenir estos y otros tipos de cáncer. Los inhibidores de la PTP-1B pueden por tanto ser útiles para tratar o prevenir el cáncer y para frenar la progresión del cáncer una vez que se ha desarrollado.

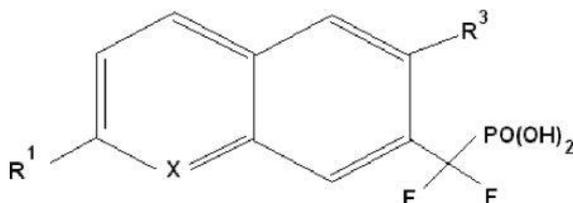
Los estudios también sugieren que los inhibidores de la PTP-1B pueden ser útiles para tratar o prevenir enfermedades neurodegenerativas.

Montalibet J. et al., *Residues distant from the active site influence protein-tyrosine phosphatase 1B inhibitor binding*, *J. Biol. Chem.* 281 (8): 5258-5266, 2006, describe la identificación de regiones de la proteína tirosina fosfatasa (PTP) 1B que están distantes del sitio activo y que afectan a la unión del inhibidor.

El documento WO2006/055525 describe inhibidores de la proteína tirosina-fosfatasa (PTP) 1B. Sin embargo, los compuestos que tienen una estructura a base de naftaleno o a base de indol descritos en el documento WO2006/055525 se limitan a compuestos que tienen un grupo sustituyente en el anillo de benceno, que no tiene un sustituyente de ácido fosfónico. Además, aunque el documento WO2006/055525 describe la posibilidad de sustituir el hidrógeno en el anillo de 5 miembros de la estructura a base de indol, no menciona en absoluto la posibilidad de sustitución en el anillo de 6 miembros de la estructura de naftaleno.

**Resumen de la invención**

Los compuestos representados por la Fórmula Ia, incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y los profármacos de los mismos, son inhibidores de la PTP-1B que pueden ser útiles en el tratamiento de la diabetes y enfermedades relacionadas, y también pueden ser útiles en el tratamiento de otras enfermedades o afecciones mediadas por la PTP-1B.

**Fórmula Ia**

En los compuestos de Fórmula Ia:

X es CH;

R<sup>1</sup> se selecciona entre el grupo que consiste en (a) alquilo C<sub>1-3</sub> opcionalmente sustituido con 1-3 halógenos y opcionalmente sustituido con -CN, (b) -C(=O)H, (c) -C(=O)alquilo C<sub>1-3</sub> (d) -CH=CH-fenilo en el que el fenilo está sustituido con -C(=O)OH; y

R<sup>3</sup> es Br.

**También se describen usos médicos para**

El tratamiento y el control de la diabetes, la obesidad y otras enfermedades y afecciones utilizando los compuestos de la Fórmula Ia. También se describen en el presente documento composiciones farmacéuticas y tratamientos combinados.

Los compuestos descritos en el presente documento son una nueva clase de inhibidores de la PTP-1B. Se ha descrito la estructura y el nombre de uno de los compuestos (ejemplo 7B) en dos publicaciones, enumeradas a continuación, como un inhibidor de la PTP-1B. La síntesis del compuesto no se desveló en estas publicaciones: (1) Montalibet *et al.*, *Biochemical Pharmacology*, 2004, 68: 1807-1814, (2) Montalibet *et al.*, *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281, N° 8: 5258- 5266.

**Descripción detallada de la invención**

Los compuestos de Fórmula Ia tienen numerosas formas de realización, como se resume a continuación:

La invención incluye los compuestos como se muestran y también incluye (cuando sea posible) los diastereómeros, enantiómeros y epímeros de los compuestos individuales y de las mezclas de diastereómeros y/o enantiómeros de los mismos, incluyendo las mezclas racémicas. Aunque se prefieren las estereoquímicas específicas descritas en el presente documento, otros estereoisómeros, incluyendo los diastereómeros, enantiómeros, epímeros y las mezclas de éstos, también pueden tener utilidad en el tratamiento de las enfermedades mediadas por la PTP-1B. Los diastereoisómeros y enantiómeros inactivos o menos activos son útiles para los estudios científicos relacionados con el receptor y el mecanismo de activación.

La invención también incluye las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos, y las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos son especialmente útiles en el tratamiento de la resistencia a la insulina, la diabetes de tipo 2 y la dislipidemia, que está asociada con la diabetes de tipo 2 y la resistencia a la insulina. Los compuestos también son útiles para el tratamiento de la obesidad. También son útiles para tratar ciertos tipos de cáncer y para ralentizar la progresión del cáncer una vez que se ha desarrollado en un paciente. También son útiles para tratar, prevenir o ralentizar la progresión de la enfermedad neurodegenerativa.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden utilizarse en composiciones farmacéuticas que comprenden (a) el compuesto, o compuestos, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos pueden utilizarse en composiciones farmacéuticas que incluyan uno o más de otros principios activos. Los compuestos también pueden utilizarse en composiciones farmacéuticas en las que el compuesto de Fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es el único principio activo.

Un compuesto de Fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden utilizarse en la fabricación

de un medicamento para el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2 en un ser humano u otro paciente mamífero.

Un método de tratamiento de la diabetes de tipo 2 comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende el compuesto, a un paciente que tiene necesidad de tratamiento. A continuación se describen otros usos médicos de los compuestos de Fórmula Ia .

#### Abreviaturas

Se utilizan en el presente documento las abreviaturas y los términos que se emplean frecuentemente en los campos de la química orgánica, la química médica, la farmacología y la medicina, y que son bien conocidos por los profesionales en estos campos. Se proporcionan a continuación abreviaturas y definiciones representativas:

Ac es acetilo [ $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$ ];  $\text{Ac}_2\text{O}$  es anhídrido acético; 9-BBN es 9-borabicyclo[3.3.1]nonano; Bn es bencilo; BOC es *tert*-butiloxycarbonilo; DIAD es diisopropilazodicarboxilato; DIBAL es hidruro de diisobutilaluminio; DMF es N,N-dimetilformamida; DMSO es dimetilsulfóxido; EDAC (o EDC) es clorhidrato de 1-etil-3-[3-(dimetilamino)propil]-carbodiimida;  $\text{Et}_3\text{N}$  es trietilamina; Et es etilo; EtOAc es acetato de etilo; EtOH es etanol; 3-F-Ph es 3-fluorofenil, HCl es ácido clorhídrico; HOBt es 1-hidroxibenzotriazol; HPLC es cromatografía líquida de alta resolución; CLEM es HPLC con detección masa espectral; LG es un grupo saliente; M es molar; mmol es milimol; Me es metilo; MeOH es metanol; MsCl es cloruro de metanosulfonilo; N es normal; NaHMDS es hexametildisilazida de sodio; NaOAc es acetato de sodio; NaOtBu es *tert*-butóxido de sodio; NMO es N-óxido de N-metilmorfolina; NMP es N-metilpirrolidona;  $\text{Pd}(\text{dba})_2$  es tris(dibencilidenacetona)dipaladio;  $\text{PdCl}_2(\text{Ph}_3\text{P})_2$  es diclorobis-(trifenilfosfeno)paladio; PG denota un grupo protector no especificado; Ph es fenilo; PhMe es tolueno;  $\text{PPH}_3$  es trifenilfosfina; PMB es para-metoxibencilo; TA es la temperatura ambiente; TBAF es fluoruro de tetrabutilamonio; TBS es *tert*-butildimetilsililo; tBu es *tert*-butilo; Tf es triflato; TFA es ácido trifluoroacético; THF es tetrahidrofurano; TLC es cromatografía en capa fina; TMS es trimetilsililo; TPAP es perrutenato de tetrapropilamonio.

#### Definiciones

"Ac" es acetilo, que es  $\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})-$ .

"Alquilo" significa cadenas de carbono saturadas que pueden ser lineales o ramificadas o combinaciones de las mismas, a menos que la cadena de carbono se defina de otra manera. Otros grupos que tienen el prefijo "alq/alc", tales como alcoxi y alcanilo, también pueden ser lineales o ramificados o combinaciones de los mismos, a menos que la cadena de carbono se defina de otra manera. Ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*- y *tert*-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo y similares.

"Alqueno" significa cadenas de carbono que contienen al menos un doble enlace carbono-carbono y que pueden ser lineales, o ramificadas, o combinaciones de las mismas. Ejemplos de alqueno incluyen vinilo, alilo, isopropenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, 1-propenilo, 2-butenilo, 2-metil-2-butenilo y similares.

"Alquino" significa cadenas de carbono que contienen al menos un triple enlace carbono-carbono y que pueden ser lineales, o ramificadas, o combinaciones de las mismas. Ejemplos de alquino incluyen etinilo, propargilo, 3-metil-1-pentinilo, 2-heptinilo y similares.

"Cicloalquilo" significa un anillo carbocíclico saturado, que tiene un número especificado de átomos de carbono. El término también puede utilizarse para describir un anillo carbocíclico condensado con un grupo arilo. Ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares. Los anillos cicloalqueno comprenden un doble enlace en el anillo.

"Arilo" se utiliza frecuentemente para referirse a estructuras carbocíclicas aromáticas. Los grupos arilo más frecuentes son fenilo y naftilo. El fenilo es generalmente el grupo arilo más preferido.

"Heterociclo" significa un anillo o un sistema de anillo saturado o parcialmente insaturado que contiene al menos un heteroátomo seleccionado entre N, S y O, en donde el número de heteroátomos y el tamaño del anillo y el grado de insaturación (si la hay) se definen en el presente documento. Ejemplos de heterociclos incluyen tetrahidrofurano, piperazina, piperidina y morfina.

"Heteroarilo" significa un anillo heteroaromático que contiene al menos un heteroátomo de anillo seleccionado entre N, O y S (incluyendo SO y  $\text{SO}_2$ ), como se define más específicamente en el presente documento. Ejemplos de heteroarilo incluyen pirrolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, pirazolilo, piridilo, oxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tiazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, furanilo, triazinilo, tienilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, bencisoxazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo (incluyendo S-óxido y dióxido), furo(2,3-b)piridilo, quinolilo, indolilo, isoquinolilo, quinazolinilo, dibenzofuranilo y similares.

"Halógeno" incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

"Me" representa metilo.

- 5 La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones, sales y/o formas de dosificación que son, utilizando un criterio médico razonable y siguiendo todas las regulaciones gubernamentales aplicables, seguros y adecuados para la administración a un ser humano o a un animal.
- 10 Se pretende que el término "composición", como en composición farmacéutica, abarque un producto que comprende el principio o principios activos y el ingrediente o ingredientes inertes que constituyen el vehículo, así como cualquier producto que sea resultado, directa o indirectamente, de la combinación, complejación o agregación de cualesquier dos o más de los ingredientes, o de la disociación de uno o más de los ingredientes, o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los ingredientes. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente
- 15 invención abarcan cualquier composición preparada mediante la mezcla de un compuesto de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

El sustituyente "tetrazol" significa un grupo sustituyente 2H-tetrazol-5-ilo y los tautómeros del mismo.

## 20 Isómeros ópticos – Diastereómeros – Isómeros geométricos - Tautómeros

Los compuestos de Fórmula la pueden contener uno o más centros asimétricos y por tanto pueden presentarse como racematos, mezclas racémicas, enantiómeros individuales, diastereómeros individuales y mezclas de diastereómeros y/o enantiómeros. Se entiende que la invención comprende todas estas formas isoméricas de los

25 compuestos de Fórmula la. Específicamente, los compuestos de la presente invención tienen al menos tres centros asimétricos. Pueden estar presentes centros asimétricos adicionales dependiendo de la naturaleza de los diversos sustituyentes en la molécula. Se pretende que todos los isómeros ópticos posibles, estereoisómeros y diastereómeros en mezclas y como compuestos puros o parcialmente purificados estén incluidos dentro del alcance de esta invención (es decir, todas las combinaciones posibles de los centros asimétricos como compuestos puros o

30 en mezclas).

Algunos de los compuestos descritos en el presente documento pueden contener dobles enlaces olefínicos y, a menos que se especifique lo contrario, se entiende que incluyen tanto los isómeros geométricos E como los Z.

- 35 Algunos de los compuestos descritos en el presente documento pueden existir con diferentes puntos de unión de hidrógeno, denominados como tautómeros. Un ejemplo es una cetona y su forma enólica, conocidas como tautómeros ceto-enol. Los tautómeros individuales, así como las mezclas de los mismos, están englobados con los compuestos de Fórmula la.
- 40 Los compuestos de Fórmula la que tienen uno o más centros asimétricos pueden separarse en diastereoisómeros, enantiómeros y similares por métodos bien conocidos en la técnica.

Como alternativa, los enantiómeros y otros compuestos con centros quirales pueden sintetizarse mediante síntesis estereoespecífica utilizando materiales de partida ópticamente puros y/o reactivos de configuración conocida.

## 45 Sales

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a las sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo las bases inorgánicas u orgánicas y los ácidos inorgánicos u orgánicos. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen las sales de: aluminio, amonio, calcio, cobre, las férricas, ferrosas, las de litio, magnesio, las sales mangánicas, manganosas, las de potasio, sodio, zinc y similares. Son particularmente preferidas las sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Las sales en forma sólida pueden existir en más de una estructura cristalina y también pueden estar en forma de hidratos. Las sales derivadas de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de aminas primarias, secundarias y

55 terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etil-morfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares.

60

Cuando el compuesto de la presente invención es básico, o cuando tiene un grupo sustituyente básico en su estructura, las sales pueden prepararse a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo los ácidos inorgánicos y los orgánicos. Dichos ácidos incluyen el ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múxico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares. Son particularmente preferidos los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico,

65

maleico, fosfórico, sulfúrico y tartárico.

Se entenderá que, como se utilizan en el presente documento, las referencias a los compuestos de Fórmula la se entiende que también incluyen las sales farmacéuticamente aceptables.

5

#### Metabolitos - Profármacos

La invención incluye metabolitos terapéuticamente activos, donde los propios metabolitos caen dentro del alcance de las reivindicaciones. La invención también incluye profármacos, que son compuestos que se convierten en los compuestos reivindicados a medida que se administran a un paciente o después de que se han administrado a un paciente. Las estructuras químicas reivindicadas de esta solicitud en algunos casos pueden ser profármacos en sí mismos.

10

#### Utilidades

15

Los compuestos ejemplificados específicamente en el presente documento presentan una buena eficacia en la inhibición de la enzima PTP-1B, como se demuestra en sus ensayos *in vitro*. Los compuestos generalmente tienen un valor  $CI_{50}$  menor de 2  $\mu M$  en el ensayo enzimático descrito en la sección de ensayos, y preferentemente tienen un valor  $CI_{50}$  menor de 1  $\mu M$ .

20

Los inhibidores de la PTP-1B mejoran la sensibilidad a la insulina y pueden tener utilidad en la prevención o el tratamiento de la diabetes, en la mejora de la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina cuando existe resistencia a la insulina, y en el tratamiento o la prevención de la obesidad, todo en mamíferos que tengan necesidad de dichos tratamientos o que puedan beneficiarse de dichos tratamientos, incluyendo los seres humanos.

25

Los compuestos son más útiles generalmente en el tratamiento de la diabetes de tipo 2 (diabetes no insulino dependiente o DMNID). Los compuestos también pueden causar una reducción beneficiosa de los triglicéridos y los lípidos.

30

Los compuestos que inhiben la PTP-1B también pueden ser útiles en el tratamiento, la prevención o el control de una serie de afecciones que acompañan a la diabetes de tipo 2, incluyendo hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia (incluyendo el aumento beneficioso de los niveles bajos de HDL), aterosclerosis, reestenosis vascular, pancreatitis, tumores de células adiposas, carcinomas de células adiposas tales como liposarcoma, dislipidemia, enfermedad inflamatoria intestinal, la inflamación en general y otros trastornos donde la resistencia a la insulina es un componente.

35

Se espera que los compuestos sean eficaces en la reducción de la glucosa y los lípidos en pacientes diabéticos y en pacientes no diabéticos que tengan la tolerancia a la glucosa afectada y/o estén en una condición pre-diabética. Los compuestos pueden mejorar la hiperinsulinemia, que a menudo se presenta en los pacientes diabéticos o pre-diabéticos, mediante la modulación de las oscilaciones del nivel de glucosa sérica que a menudo se presenta en estos pacientes. Los compuestos también pueden ser eficaces en el tratamiento o la reducción de la resistencia a la insulina. Los compuestos pueden ser eficaces en el tratamiento o la prevención de la diabetes gestacional.

40

Los compuestos, composiciones y medicamentos como se describen en el presente documento también pueden ser eficaces en la reducción de los riesgos de secuelas adversas asociadas con el síndrome metabólico, en la reducción del riesgo de desarrollar aterosclerosis, el retraso de la aparición de la aterosclerosis y/o la reducción del riesgo de secuelas de la aterosclerosis. Las secuelas de la aterosclerosis incluyen angina, claudicación, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y otros.

45

Al mantener bajo control la hiperglucemia, los compuestos también pueden ser eficaces en el retraso o la prevención de la reestenosis vascular y la retinopatía diabética.

50

Los compuestos de esta invención también pueden tener de utilidad en la mejora o la restauración de la función de las células  $\beta$ , de modo que pueden ser útiles en el tratamiento de la diabetes de tipo 1 o en el retraso o la prevención de que un paciente con diabetes de tipo 2 necesite terapia con insulina.

55

Se han observado en varias líneas de cáncer, incluyendo la leucemia mielógena crónica (CML), el cáncer de mama, el cáncer de ovario y el cáncer de próstata, sobreexpresión y niveles elevados de PTP-1B, lo que sugiere un papel regulador de la PTP-1B en el control de la actividad quinasa en estas y otras células cancerosas. Así, la inhibición de la actividad de la PTP-1B puede constituir un objetivo importante para el tratamiento o la prevención de estos y otros cánceres. Por tanto, los compuestos pueden utilizarse para tratar o prevenir cánceres, tales como cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, mieloma múltiple, leucemia, melanoma, linfoma, cáncer renal y cáncer de vejiga.

60

Los compuestos también pueden tener utilidad en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

65

Los compuestos generalmente son eficaces en el tratamiento de una o más de las siguientes enfermedades: (1)

diabetes de tipo 2 (también conocida como diabetes mellitus no insulino dependiente o DMNID), (2) hiperglucemia, (3) tolerancia a la glucosa alterada, (4) resistencia a la insulina, (5) obesidad, (6) trastornos lipídicos, (7) dislipidemia diabética o mixta, (8) hiperlipidemia, (9) hipertrigliceridemia, (10) hipercolesterolemia, (11) colesterol HDL bajo, (12) colesterol LDL elevado, (13) hiperapoplipoproteinemia, (14) aterosclerosis y sus secuelas, (14) reestenosis vascular, (15) obesidad abdominal, (16) retinopatía, (17) síndrome metabólico, (18) hipertensión arterial, (19) resistencia a la insulina, (20) cáncer y (21) enfermedad neurodegenerativa.

Un aspecto de la invención proporciona un método para el tratamiento y el control de la dislipidemia mixta o diabética, la hipercolesterolemia, la aterosclerosis, los niveles bajos de HDL, los niveles altos de LDL, la hiperlipidemia, y/o la hipertrigliceridemia, que comprende administrar a un paciente que tenga necesidad de dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que tiene la Fórmula I. El compuesto puede utilizarse solo o puede administrarse ventajosamente con un inhibidor de la biosíntesis del colesterol, particularmente un inhibidor de la HMG-CoA reductasa tal como lovastatina, simvastatina, rosuvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, rivastatina o pitavastatina. El compuesto también puede utilizarse ventajosamente en combinación con otros fármacos reductores de lípidos tales como inhibidores de la absorción de colesterol (por ejemplo ésteres de estanol, glicósidos de esteroles tales como tiquesida y azetidinonas tales como ezetimiba), inhibidores de la ACAT (tales como avasimiba), inhibidores de la CETP (por ejemplo torcetrapib y aquellos descritos en las solicitudes publicadas WO2005/100298, WO2006/014413 y WO2006/014357), niacina y agonistas de receptores de niacina, sequestradores de ácidos biliares, inhibidores del transporte de triglicéridos microsomal e inhibidores selectivos de la recaptación de ácidos biliares. Estos tratamientos de combinación pueden ser eficaces para el tratamiento o el control de una o más afecciones relacionadas incluyendo hipercolesterolemia, aterosclerosis, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, dislipidemia, LDL alto y HDL bajo.

Los compuestos de Fórmula I, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden utilizarse en métodos para tratar una o más de las enfermedades enumeradas anteriormente mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto a un paciente que tenga necesidad de tratamiento. Los compuestos de Fórmula I, o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también pueden utilizarse en la fabricación de medicamentos para tratar una o más de las enfermedades enumeradas.

### 30 Administración e intervalos de dosis

Puede emplearse cualquier vía de administración adecuada para proporcionar a un mamífero, especialmente a un ser humano, una dosis eficaz de un compuesto de la presente invención. Puede emplearse, por ejemplo, la vía oral, rectal, tópica, parenteral, ocular, pulmonar, nasal y similares. Las formas de dosificación incluyen comprimidos, trociscos, dispersiones, suspensiones, soluciones, cápsulas, cremas, pomadas, aerosoles y similares. Preferentemente, los compuestos de Fórmula I se administran por vía oral.

La dosificación eficaz del principio activo empleado puede variar dependiendo del compuesto particular empleado, del modo de administración, de la afección que se trata y de la gravedad de la afección que se trata. Dicha dosificación puede determinarse fácilmente por una persona experta en la materia.

Al tratar o controlar la diabetes mellitus y/o la hiperglucemia o la hipertrigliceridemia u otras enfermedades para las que se indican los compuestos de Fórmula I, se obtienen resultados satisfactorios generalmente cuando los compuestos de la presente invención se administran en una dosificación diaria de aproximadamente 0,1 miligramos a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo de peso corporal del animal, preferentemente administrado como una dosis diaria única o en dosis divididas de dos a seis veces al día o en forma de liberación sostenida. Para la mayoría de los mamíferos grandes, la dosificación diaria total es de aproximadamente 1,0 miligramo a aproximadamente 1000 miligramos. En el caso de un ser humano adulto de 70 kg, la dosis diaria total será generalmente de aproximadamente 1 miligramo a aproximadamente 500 miligramos. Para un compuesto particularmente potente, la dosificación para un ser humano adulto puede ser tan baja como de 0,1 mg. En algunos casos, la dosis diaria puede ser tan elevada como de un gramo. El régimen de dosificación puede ajustarse dentro de este intervalo o incluso fuera de este intervalo para proporcionar la respuesta terapéutica óptima.

La administración oral normalmente se llevará a cabo utilizando comprimidos o cápsulas. Los ejemplos de dosis en comprimidos y cápsulas son 0,1 mg, 0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg y 750 mg. Otras formas orales también pueden tener las mismas o similares dosificaciones. Estos comprimidos y cápsulas pueden administrarse una vez al día, dos veces al día, tres veces al día o cuatro veces al día. Generalmente se prefiere la administración una vez al día.

### 60 Composiciones farmacéuticas

Otro aspecto de la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable como principio activo, así como un vehículo farmacéuticamente aceptable y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos

farmacéuticamente aceptables incluyendo bases o ácidos inorgánicos y bases o ácidos orgánicos. Una composición farmacéutica puede comprender también un profármaco, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, si se administra un profármaco.

- 5 Las composiciones incluyen composiciones adecuadas para la administración oral, rectal, tópica, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular e intravenosa), ocular (oftálmica), pulmonar (inhalación nasal o bucal) o administración nasal, aunque la vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá de la naturaleza y la gravedad de las afecciones que se tratan y de la naturaleza del principio activo. Éstas pueden presentarse convenientemente en una forma de dosificación unitaria y prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

10 En el uso práctico, los compuestos de Fórmula la pueden combinarse como el principio activo en mezcla íntima con un vehículo farmacéutico según las técnicas farmacéuticas convencionales de preparación de compuestos. El vehículo puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración, por ejemplo, oral o parenteral (incluyendo intravenosa). En la preparación de las composiciones como forma de dosificación oral, pueden emplearse cualesquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales, tal como, por ejemplo, suspensiones, elixires y soluciones; o vehículos tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes granulantes, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de preparaciones orales sólidas tales como, por ejemplo, polvos, cápsulas duras y blandas y comprimidos, prefiriéndose las preparaciones orales sólidas sobre las preparaciones líquidas.

25 Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean, obviamente, vehículos farmacéuticos sólidos. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas acuosas o no acuosas estándar. Dichas composiciones y preparaciones deberían contener al menos el 0,1 por ciento de compuesto activo. El porcentaje de compuesto activo en estas composiciones puede, por supuesto, variarse y puede ser, convenientemente, de entre aproximadamente el 2 por ciento y aproximadamente el 60 por ciento del peso de la unidad. La cantidad de compuesto activo en dichas composiciones terapéuticamente útiles es de manera que se obtendrá una dosificación eficaz. Los compuestos activos también pueden administrarse por vía intranasal como, por ejemplo, gotas líquidas o aerosol.

30 Los comprimidos, las píldoras, las cápsulas y similares también pueden contener un aglutinante tal como goma tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato de dicalcio; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido alginico; un lubricante tal como estearato de magnesio y un agente edulcorante tal como sacarosa, lactosa o sacarina. Cuando una forma de dosificación unitaria es una cápsula, ésta puede contener, además de los materiales del tipo anteriormente descrito, un vehículo líquido tal como un aceite graso.

40 En algunos casos, dependiendo de la solubilidad del compuesto o la sal que se administra, puede ser ventajoso formular el compuesto o la sal como una solución en un aceite tal como un triglicérido de uno o más ácidos grasos de cadena media, un disolvente lipófilo, tal como triacetina, un disolvente hidrófilo (por ejemplo, propilenglicol) o una mezcla de dos o más de éstos, incluyendo también opcionalmente uno o más tensioactivos iónicos o no iónicos, tales como laurilsulfato de sodio, polisorbato 80, triglicéridos polietoxilados y mono y/o diglicéridos de uno o más ácidos grasos de cadena media. Las soluciones que contienen tensioactivos (especialmente 2 o más tensioactivos) formarán emulsiones o microemulsiones en contacto con el agua. El compuesto también puede formularse en un polímero hidrosoluble en el que se ha dispersado como una fase amorfa, mediante métodos tales como extrusión por fusión en caliente y secado por pulverización, incluyendo dichos polímeros acetato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y polivinilpirrolidonas, incluyendo el homopolímero y los copolímeros.

50 Otros materiales diversos pueden estar presentes como recubrimientos o para modificar la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, los comprimidos pueden estar recubiertos con goma laca, azúcar o ambos. Un jarabe o elixir puede contener, además del principio activo, sacarosa como un agente edulcorante, metilo y propilparabenos como conservantes, un colorante y un aromatizante tal como aroma de cereza o naranja.

55 Los compuestos de Fórmula la también pueden administrarse parenteralmente. Las soluciones o suspensiones de estos compuestos activos pueden prepararse en agua adecuadamente mezclada con un tensioactivo o mezcla de tensioactivos tales como hidroxipropilcelulosa, polisorbato 80 y mono y diglicéridos de ácidos grasos de cadena media y larga. Las dispersiones también pueden prepararse en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

60 Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida hasta el punto de que exista una fácil inyectabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de

microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales.

## 5 Terapia combinada

Los compuestos de Fórmula la pueden utilizarse en combinación con otros fármacos que también pueden ser útiles en el tratamiento o la mejora de las enfermedades o afecciones para las que los compuestos de Fórmula la son útiles. Dichos otros fármacos pueden administrarse, por una vía y en una cantidad utilizadas frecuentemente para 10 ello, simultáneamente o secuencialmente con un compuesto de Fórmula la. En el tratamiento de pacientes que tienen diabetes de tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad, síndrome metabólico y comorbilidades que acompañan a estas enfermedades, se administra frecuentemente más de un fármaco. Los compuestos de esta invención pueden administrarse generalmente a un paciente que ya está tomando uno o más de otros fármacos para estas afecciones. A menudo, los compuestos se administrarán a un paciente que ya está siendo tratado con uno o más 15 compuestos antidiabéticos, tales como metformina, sulfonilureas y/o agonistas de PPAR, cuando los niveles de glucemia del paciente no están respondiendo adecuadamente al tratamiento.

Cuando un compuesto de la Fórmula la se utiliza simultáneamente con uno o más de otros fármacos, se prefiere una composición farmacéutica en forma de dosificación unitaria que contenga dichos otros fármacos y el compuesto 20 de Fórmula la. Sin embargo, la terapia de combinación incluye también terapias en las que el compuesto de Fórmula la y uno o más de otros fármacos se administran en diferentes programas superpuestos. También se contempla que cuando se utiliza en combinación con uno o más de otros principios activos, el compuesto de la presente invención y los otros principios activos pueden utilizarse en dosis más bajas que cuando se utiliza cada uno por separado. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas que contienen uno o más 25 de otros principios activos, además de un compuesto de Fórmula la.

Los ejemplos de otros principios activos que pueden administrarse en combinación con un compuesto de Fórmula la, y se administran tanto por separado como en la misma composición farmacéutica, incluyen, pero sin limitación:

- 30 (a) agonistas y agonistas parciales del PPAR gamma, incluyendo tanto glitazonas como no glitazonas (por ejemplo troglitazona, pioglitazona, englitazona, MCC-555, rosiglitazona, balaglitazona, netoglitazona, T-131, LY-300512, LY-818 y los compuestos descritos en los documentos WO02/08188, WO2004/020408 y WO2004/020409.
- (b) biguanidas tales como metformina y fenformina;
- 35 (c) agonistas del GPR40;
- (d) inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP-IV), tales como sitagliptina, saxagliptina y vildagliptina;
- (e) insulina o insulino miméticos;
- (f) sulfonilureas tales como tolbutamida, glimepirida, glipizida y materiales relacionados;
- (g) inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa (tales como acarbosa);
- 40 (h) agentes que mejoran el perfil lipídico del paciente, tales como (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa (lovastatina, simvastatina, rosuvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina, rivastatina, pitavastatina, ZD-4522 y otras estatinas), (ii) secuestradores de ácidos biliares (colestiramina, colestipol y derivados dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado), (iii) agonistas de receptores de niacina, alcohol nicotínico, ácido nicotínico o una sal del mismo, (iv) agonistas del PPAR $\alpha$  tales como derivados de ácido fenofibrato (gemfibrozilo, 45 clofibrato, fenofibrato y bezafibrato), (v) inhibidores de la absorción del colesterol, tales como por ejemplo ezetimiba, (vi) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT), tales como avasimiba, (vii) inhibidores de la CETP, tales como torcetrapib y (viii) antioxidantes fenólicos, tales como probucol;
- (i) agonistas duales del PPAR $\alpha/\gamma$ , tales como muraglitazar, tesaglitazar, farglitazar y JT-501;
- (j) agonistas del PPAR $\delta$  tales como aquellos desvelados en el documento WO97/28149;
- 50 (k) compuestos antiobesidad tales como fenfluramina, dexfenfluramina, fentiramina, sibutramina, orlistat, inhibidores del neuropéptido Y5, agonistas de Mc4r, antagonistas/agonistas inversos del receptor cannabinoide 1 (CB-1) y agonistas del receptor adrenérgico  $\beta_3$ ;
- (L) inhibidores del transportador ileal de ácidos biliares;
- (m) agentes destinados para su uso en afecciones inflamatorias tales como aspirina, fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, glucocorticoides, azulfidina e inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2;
- 55 (n) antagonistas del receptor de glucagón;
- (o) GLP-1,
- (p) GIP-1,
- (q) análogos de la GLP-1, tales como exendinas, por ejemplo exenatida (Byetta) y
- 60 (r) inhibidores de la hidroxisterol deshidrogenasa-1 (HSD-1).

Las combinaciones anteriores incluyen combinaciones de un compuesto de la presente invención no solamente con otro compuesto activo, sino también con otros dos o más compuestos activos. Los ejemplos no limitantes incluyen combinaciones de compuestos que tienen la Fórmula la con dos o más compuestos activos seleccionados entre 65 biguanidas, sulfonilureas, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, otros agonistas del PPAR, agonistas del GPR40, inhibidores de la DP-IV y compuestos antiobesidad.

ENSAYOS PARA MEDIR LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La actividad en los compuestos de la presente solicitud se demuestra mediante los siguientes ensayos de la actividad inhibitoria de la PTP-1B.

5

Protocolo del ensayo de la fosfatasa

Materiales:

10 EDTA - ácido etilendiaminotetraacético (Sigma)

DMH - N,N'-dimetil-N,N'-bis(mercaptoacetil)-hidrazina (síntesis publicada en *J. Org. Chem.* 56, págs. 2332-2337, (1991) por R. Singh y G. M. Whitesides y puede sustituirse por DTT - ditioneitol Bistris - 2,2-bis(hidroximetil)2,2',2"-nitrilotrietanol-(Sigma) Triton X-100 - octilfenolpoli(etileno-glicoléter) 10

15

(Pierce)

Anticuerpo: Fracción anti-glutatión S-transferasa de conejo (H y L) (Molecular Probes)

20 Enzima: PTP-1B recombinante humana, que contiene los aminoácidos 1-320, fusionados a la enzima GST (glutatión S-transferasa) o al péptido FLAG purificado por cromatografía de afinidad (Huyer *et al.*, 1997, *J. Biol. Chem.*, 272, 843-852). La enzima natural contiene cisteína(215) en el sitio activo, mientras que el mutante contiene serina(215) en el sitio activo.

25 Péptido tritiado: Bz-NEJJ-CONH<sub>2</sub>, Pm. 808, fórmula empírica, C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>T<sub>2</sub>O<sub>12</sub>P<sub>2</sub>F<sub>4</sub>

Soluciones madre

(10X) Tampón del ensayo Bistris (Sigma) 500 mM, pH 6,2  
PM=209,2

EDTA (GIBCO/BRL) 20 mM

Almacenar a 4°C.

30 Preparar nuevo todos los días:

Tampón del ensayo (1X) Bistris 50 mM  
(temperatura ambiente) EDTA 2 mM  
DMH 5 mM (PM=208)

Dilución enzimática

35

Tampón (mantener en hielo) Bistris 50 mM  
EDTA 2 mM  
DMH 5 mM  
Glicerol al 20 % (Sigma)  
Triton X-100 al 0,01 % (Pierce)

Dilución de anticuerpo

Tampón (mantener en hielo) Bistris 50 mM  
EDTA 2 mM

40

Protocolo de ensayo de unión Cl<sub>50</sub>:

Los compuestos (ligandos) que inhiben potencialmente la unión de un ligando radiactivo a la fosfatasa específica se seleccionan en un formato de placa de 96 pocillos de la siguiente manera:

45

A cada pocillo se añaden las siguientes soluciones a 25°C en el siguiente orden cronológico:

1. 110 µl de tampón de ensayo.
2. 10 µl de BzN-EJJ-CONH<sub>2</sub> tritiado 50 nM en tampón de ensayo (1X) a 25°C.
3. 10 µl de compuesto de ensayo en DMSO en 10 concentraciones diferentes en dilución en serie (DMSO final, aproximadamente al 5 % v/v) por duplicado a 25°C.
- 5 4. 10 µl de GST-PTP-1B recombinante humana purificada 3,75 g/ml en tampón de dilución enzimática.
5. La placa se agita durante 2 minutos.
6. 10 µl de IgG anti-glutatión S-transferasa (anti-GST) de conejo 0,3 g/l (Molecular Probes) diluido en tampón de dilución de anticuerpo a 25°C.
7. La placa se agita durante 2 minutos.
- 10 8. 50 µl de microesferas de proteína A-PVT SPA (Amersham) a 25°C.
9. La placa se agita durante 5 minutos. La señal de unión se cuantifica en un contador de placas de 96 pocillos Microbeta.
10. La señal no específica se define como la unión enzima-ligando en ausencia de anticuerpo anti-GST.
11. El 100 % de actividad de unión se define como la unión enzima-ligando en presencia de anticuerpo anti-GST, pero en ausencia de los ligandos de ensayo con la unión no específica sustraída.
- 15 12. El porcentaje de inhibición se calcula según corresponda.
13. El valor de  $CI_{50}$  se aproxima a partir del ajuste de regresión no lineal con la ecuación de 4 parámetros/sitios múltiples (descrito en: "*Robust Statistics*", Nueva York, Wiley, por PJ Huber (1981) y publicado en unidades nM.
- 20 14. Los ligandos de ensayo (compuestos) con una inhibición mayor del 90 % a 10 µM se definen como activos.

#### Ensayo enzimático de la PTP-1B

25	Tampón de ensayo	Bis-Tris 50 mM (pH=6,3) EDTA 2 mM N,N'-dimetil-N,N'-bis(mercaptoacetil)hidrazina (DMH) 5 mM
	Sustrato	difosfato de fluoresceína (FDP) 10 mM almacenar a -20°C (también puede utilizarse DiFMUP 10 mM)
	Tampón de dilución enzimática	Bis-Tris 50 mM (pH=6,3) EDTA 2 mM DMH 5 mM Glicerol al 20 % (v/v) Triton X-100 al 0,01 %

El ensayo se llevó a cabo a temperatura ambiente en placas de 96 pocillos. La mezcla de reacción en 170 µl contenía Bis-Tris 50 mM (pH=6,3), EDTA 2 mM, N,N'-dimetil-N,N'-bis(mercaptoacetil)hidrazina (DMH) 5 mM y difosfato de fluoresceína (FDP) o 6,8-difluoro-4-metilumbeliferil fosfato (DiFMUP) 10 µM. Se añadieron 10 µl de 10 concentraciones (dilución en serie) del compuesto de ensayo (inhibidor) disueltos en DMSO, o DMSO solo para el control, a cada pocillo y la placa se mezcló durante 2 min. La reacción se inició mediante la adición de 20 µl de PTP-1B diluido (FDP 50 nM, DiFMUP 0,5 nM en Bis/Tris 50 mM (pH=6,3), EDTA 2 mM, DMH 5 mM, glicerol al 20 % y Triton X-100 al 0,01 %). La actividad fosfatasa se controló mediante el seguimiento de la aparición del producto fluorescente monofosfato de fluoresceína (FMP) o de 6,8-difluoro-7-hidroxi-4-cumarina (DiFMU) de forma continua durante 15-30 minutos, utilizando el lector de placas fluorescentes Spectromax Gemini (Molecular Probes) con excitación a 440 nm y emisión a 530 nm (filtro de corte a 525 nm) para FDP y excitación a 360 nm y emisión a 450 nm (filtro de corte a 435 nm) para DiFMUP. Todos los ensayos se hicieron al menos por duplicado. La velocidad inicial de formación de FMP o de DiFMU se representa frente a la concentración del inhibidor y los datos se ajustaron a la ecuación de 4 parámetros y el punto de inflexión del ajuste es la  $CI_{50}$ .

#### Ensayo de reversibilidad

Se utilizan los mismos reactivos que en el ensayo enzimático para la PTP-1B. Los valores de  $CI_{50}$  se determinaron para los compuestos utilizando FDP 10 µM y PTP-1B 5 nM (concentración final) en una placa de 96 pocillos como se ha descrito anteriormente. La actividad fosfatasa se siguió durante 10 minutos. Se obtuvo una dilución de 40 veces de la mezcla de reacción mediante la transferencia de 5 µl de la mezcla de reacción de FDP a 195 µl del tampón del ensayo que contiene DiFMUP 10 µM en otra placa de 96 pocillos. La producción de DiFMU se siguió durante 30 minutos. Los datos tanto de la reacción de FDP como de la reacción de DiFMUP se ajustó a una ecuación de 4 parámetros y los valores de  $CI_{50}$  de determinaron en el punto de inflexión del ajuste tanto para las reacciones de FDP como de DiFMUP. Los compuestos fueron reversibles si los valores de  $CI_{50}$  se desplazaron >20 veces a partir de la dilución de FDP en tampón DiFMUP.

FARMACOCINÉTICA EN RATASFarmacocinética en ratas por vía oral

## 5 PROCEDIMIENTO:

Los animales se alojan, se alimentan y se atienden según las directrices del Consejo Canadiense de Asistencia Animal.

- 10 Se mantienen ratas Sprague Dawley macho (325-375 g) en ayunas durante la noche antes de cada estudio de concentración sanguínea por vía oral.

- 15 Las ratas se colocan en el inmovilizador de una en una y la caja se asegura firmemente. La muestra de sangre cero se obtiene mediante el corte de un pequeño trozo de la punta de la cola (1 mm o menos). La cola se frota entonces con un movimiento firme pero suave desde la parte superior a la parte inferior para extraer la sangre. Se recoge aproximadamente 1 ml de sangre en un tubo al vacío heparinizado.

- 20 Los compuestos se preparan según sea necesario, en un volumen de dosificación estándar de 10 ml/kg y se administran por vía oral mediante la introducción una aguja de sondar de 4,05 mm de calibre y 7,62 cm de largo dentro del estómago.

- 25 Las extracciones posteriores se toman de la misma manera que la extracción cero, excepto porque no hay necesidad de cortar nuevamente la cola. La cola se limpia con un trozo de gasa y se extrae/frota como se ha descrito anteriormente en los tubos adecuadamente etiquetados.

- Inmediatamente después del muestreo, la sangre se centrifuga, se separa, se pone en viales claramente marcados y se almacena en un congelador hasta que se analiza.

- 30 Los puntos de tiempo típicos para la determinación de las concentraciones sanguíneas de las ratas después de la dosificación por vía oral son:

0, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h

- 35 Tras el punto de tiempo de extracción de las 4 horas, se proporciona comida a las ratas a voluntad. Se proporciona agua en todo momento durante el estudio

Vehículos:

- 40 Los siguientes vehículos pueden utilizarse en las determinaciones de la concentración sanguínea de las ratas por vía oral:

PEG 200/300/400: restringido a 2 ml/kg

Methocel 0,5 %-1,0 %: 10 ml/kg

Tween 80: 10 ml/kg

- 45 Los compuestos para determinar las concentraciones sanguíneas por vía oral pueden estar en forma de suspensión. Para una mejor disolución, la solución puede colocarse en un baño de ultrasonidos durante aproximadamente 5 minutos.

- 50 Para el análisis, se diluyen partes alícuotas con un volumen igual de acetonitrilo y se centrifugan para retirar el precipitado de proteínas. El sobrenadante se inyecta directamente en una columna HPLC C-18 con detección UV. La cuantificación se hace en relación con una muestra de sangre limpia con una cantidad conocida de fármaco añadida. La biodisponibilidad (F) se evalúa comparando el área bajo la curva (AUC) de la vía intravenosa frente a vía oral.

$$F = \frac{AUC_{vo}}{AUC_{iv}} \times \frac{DOSIS_{iv}}{DOSIS_{vo}} \times 100\%$$

55

Las velocidades de aclaramiento se calculan a partir de la siguiente relación:

$$CL = \frac{DOSIS_{iv} \text{ (mg/kg)}}{AUC_{iv}}$$

Las unidades del CL son ml/h•kg (mililitros por hora kilogramo)

Farmacocinética en ratas por vía intravenosa

5 PROCEDIMIENTO:

Los animales se alojan, se alimentan y se atienden según las directrices del Consejo Canadiense de Asistencia Animal.

10 Se colocan ratas Sprague Dawley macho (325-375 g) en jaulas de plástico de tipo caja de zapatos con un suelo suspendido, tapa, botella de agua y alimentos.

El compuesto se prepara como se requiere, en un volumen de dosificación estándar de 1 ml/kg.

15 Las ratas se sangran para la muestra de sangre cero y se tratan con sedación por CO<sub>2</sub>. Las ratas, de una en una, se colocan en una cámara de CO<sub>2</sub> cebada y se sacan tan pronto como han perdido su reflejo de enderezamiento. La rata se coloca luego en un tablero de restricción, se coloca un cono para la nariz con administración de CO<sub>2</sub> sobre el hocico y la rata se sujeta al tablero con elásticos. Con el uso de pinzas y tijeras, se expone la vena yugular y se toma la muestra cero, seguido de una dosis medida del compuesto que se inyecta en la vena yugular. Se aplica una ligera compresión digital al sitio de inyección y se retira el cono para la nariz. Se anota el tiempo. Esto constituye el punto de tiempo cero.

25 La extracción de los 5 minutos se toma mediante el corte de un trozo (1-2 mm) de la punta de la cola. La cola se frota entonces con un movimiento firme pero suave desde la parte superior de la cola a la parte inferior para extraer la sangre de la cola. Aproximadamente 1 ml de sangre se recoge en un vial de recogida heparinizado. Las extracciones posteriores se toman de la misma manera, excepto porque no hay necesidad de cortar nuevamente la cola. La cola se limpia con un trozo de gasa y se sangra, como se ha descrito anteriormente, en los tubos etiquetados adecuados.

30 Los puntos de tiempo típicos para la determinación de las concentraciones sanguíneas de las ratas después de la administración por vía I.V. son cualquiera entre:

- 0, 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h ,6 h
- o 0, 5 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h.

35

Vehículos:

Los siguientes vehículos pueden utilizarse en las determinaciones de concentración sanguínea de ratas por vía I.V.:

40 Dextrosa: 10 ml/kg

2-hidroxiopropil-b-ciclodextrina 1 ml/kg

45 DMSO (dimetilsulfóxido): Restringido a un volumen de dosis de 0,1 ml por animal

PEG 200: No más del 60 % mezclado con un 40 % de agua estéril - 1 ml/kg

Con dextrosa, puede añadirse ya sea bicarbonato de sodio o carbonato de sodio si la solución está turbia.

50 Para el análisis, se diluyen alícuotas con un volumen igual de acetonitrilo y se centrifugan para retirar el precipitado de proteínas. El sobrenadante se inyecta directamente en una columna de HPLC C-18 con detección UV. La cuantificación se hace en relación a una muestra de sangre limpia con una cantidad conocida de fármaco añadido. La biodisponibilidad (F) se evalúa comparando el área bajo la curva (AUC) de la vía intravenosa frente a la vía oral.

$$F = \frac{AUC_{vo}}{AUC_{iv}} \times \frac{DOSIS_{iv}}{DOSIS_{vo}} \times 100\%$$

55

Las tasas de aclaramiento se calculan a partir de la siguiente relación:

$$CL = \frac{DOSIS_{iv} (mg/kg)}{AUC_{iv}}$$

Las tasas de aclaramiento se calculan a partir de la siguiente relación:

Las unidades del CL son ml/h•kg (mililitros por hora kilogramo).

## 5 Ensayo en célula intacta de la PTP-1B

### Construcción de vectores de transferencia de baculovirus recombinantes y células de insectos

10 En resumen, utilizando el sistema de expresión de baculovirus Bac-to-Bac® (Gibco-BRL, Mississauga, Ontario, Canadá) se clona el ADNc de la PTP-1B (obtenido del Dr. R. L. Erikson, Universidad de Harvard, EE.UU.), en el plásmido donante pFASTBAC genomanipulado para incluir una secuencia FLAG en el extremo 5' del ADNc (PTP-1B-FL). El plásmido recombinante se transforma en células competentes de *E. coli* DH10BAC. Después de la transposición y de la selección de antibióticos, el ADN del báculo recombinante se aísla a partir de colonias de *E. coli* seleccionadas y se utilizan para transfectar células de insecto sf9 (Invitrogen, San Diego, CA, EE.UU.). Las células sf9 se cultivan en matraces de agitación a 28°C en medio suplementado Graces (Gibco-BRL, Mississauga, Ontario, Canadá) con suero bovino fetal inactivado por calor al 10 % (Gibco-BRL) siguiendo el protocolo de Summers y Smith (*A manual for Methods for Baculovirus Vectors and Insect Culture Procedures* (Boletín N° 1555)). Universidad A & M de Texas, Estación experimental de agricultura de Texas, College Station, TX, 1987).

## 20 Ensayo de célula intacta

25 Las células sf9 infectadas que expresan la PTP1B-FL y las células infectadas simuladas, se cosechan a las 29 hpi (horas post infección) por centrifugación suave (Beckman GS-6R) a 460 rpm, (48 g) durante 5 minutos. Las células se lavan una vez en tampón de ensayo (solución de Hanks tamponada con Hepes 15 mM, pH 7,4, obtenido de Sigma, San Luis, MO, EE.UU.) y se recentrifuga a 300 rpm (21 g) durante 10 minutos. Las células después se resuspenden suavemente en tampón de ensayo y se examinan utilizando un hemocitómetro para determinar la densidad celular y la viabilidad mediante exclusión con azul tripano. Los ensayos se realizan utilizando un robot de pipeteo Tomtec Quadra 96, programado para mezclar las células suavemente después de cada adición. En 200 µl de tampón de ensayo, se distribuyen 2 x 10<sup>5</sup> células que expresan PTP o células infectadas simuladas en cada pocillo de las placas de polipropileno de 96 pocillos y se pre-incuban ya sea con un compuesto de ensayo o con vehículo DMSO (3 µl), durante 15 min a 37°C. Las células pre-incubadas se exponen a una concentración final de pNPP 10 mM (fosfato de p-nitrofenilo, obtenido de Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, Ontario) durante 15 minutos, se centrifuga a 4°C y la cantidad de hidrólisis del sustrato se determina por espectrofotometría a OD<sub>405</sub>.

## 35 Ensayo de tolerancia a la glucosa oral

40 Los ensayos de tolerancia a la glucosa oral se realizan en ratas Zucker *fa/fa* obesas conscientes o en ratones *ob/ob* obesos (de 12 semanas de edad o más). Los animales se mantienen en ayunas durante 16 a 18 horas antes de su uso para los experimentos. Se administra un compuesto de ensayo o un vehículo, ya sea por vía intraperitoneal o por vía oral 60 minutos antes de la administración oral de una solución de glucosa en una dosis de 2 g/kg de peso corporal. Los niveles de glucosa sanguínea se miden en muestras de sangrado de una cola tomadas en diferentes momentos antes y después de la administración de glucosa utilizando un glucómetro Medisense. Se genera una curva de tiempo de los niveles de glucosa sanguínea y se calcula el área-bajo-la-curva (AUC) para 120 minutos (siendo el tiempo de administración de la glucosa, el tiempo cero). El porcentaje de inhibición se determina utilizando el AUC en el grupo de control-vehículo como la inhibición del cero por ciento.

50 En estudios separados, los ratones C57BL/6J se alimentan con una dieta rica en grasas (35 %) y rica en carbohidratos (36 %) obtenida en Bioserv (Frenchtown, NJ) durante 3 a 4 semanas, momento en el que los ratones ganaron el 50-100 % del peso corporal inicial. Los ensayos de tolerancia la glucosa oral se realizan de la misma manera como se ha descrito anteriormente.

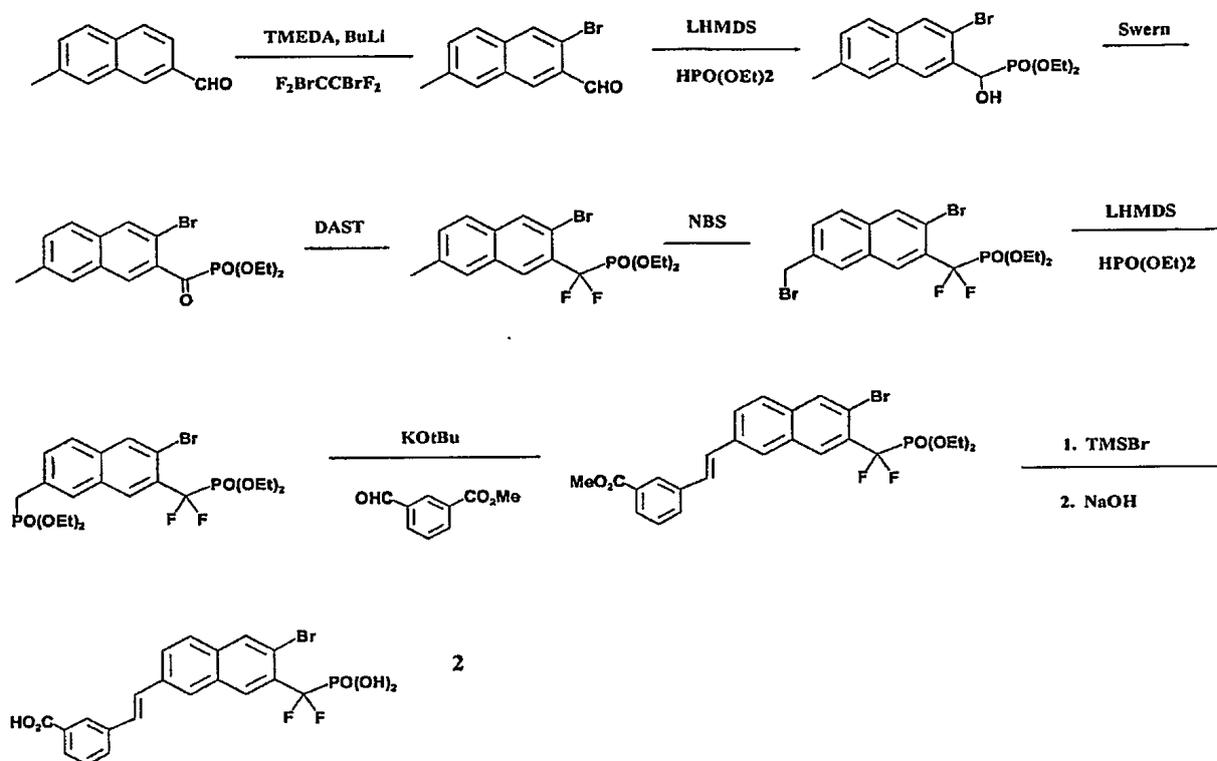
### **Ejemplos**

55 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar la invención y no deben interpretarse como limitantes de la invención de ninguna manera. El alcance de la invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

60 Los métodos para preparar los compuestos desvelados en el presente documento se ilustran en los siguientes esquemas y ejemplos. Los materiales de partida o bien están disponibles en el mercado o se preparan mediante procedimientos conocidos en la bibliografía o como se ilustra. La presente invención además proporciona procesos para la preparación de compuestos de la Fórmula 1a como se ha definido anteriormente. En algunos casos, el orden de realización de los esquemas de reacción que vienen a continuación puede variarse para facilitar la reacción o para evitar productos de reacción no deseados. Los siguientes ejemplos se proporcionan solamente con el propósito de ilustrar y no deben interpretarse como limitaciones de la invención desvelada.

## 65 **Ejemplo 2** Ácido 3-((E)-2-(6-bromo-7-(difluoro(fosfono)metil)-2-naftil)etenil)benzoico

## Esquema 2

5 Etapa 1: 3-bromo-7-metil-2-naftaldehído

El producto del título se produjo a partir de 7-metil-2-naftaldehído (430 mg), N,N,N'-trimetiletilendiamina (500 mg), BuLi (1,6 M en hexanos, 4,95 ml) y tetrafluorodibromoetano (2,5 ml) como se describe en la bibliografía (Sun, Q., Lavoie E. J.; *Heterociclos*; 1996, 43, (4), 737-743).

10

Etapa 2: (3-bromo-7-metil-2-naftil)(hidroxi)metilfosfonato de dietilo

A una solución de fosfito de dietilo (0,22 ml) en THF (5 ml) a  $-78^{\circ}\text{C}$  se añadió LiHMDS (1 equivalente de una solución 1 M en THF). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a  $-78^{\circ}\text{C}$ . Una solución de 3-bromo-7-metil-2-naftaldehído se añadió gota a gota y la reacción se agitó durante la noche a  $0^{\circ}\text{C}$ . La reacción se inactivó con una solución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , se extrajo con EtOAc y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Los extractos orgánicos se evaporaron a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con EtOAc/hexano al 50-100 % para proporcionar el producto del título.

15

20 Etapa 3: 3-bromo-7-metil-2-naftoilfosfonato de dietilo

A una solución de cloruro de oxalilo (0,15 ml) en 2,5 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a  $-78^{\circ}\text{C}$  se añadió DMSO (0,23 ml). La reacción se agitó durante 10 minutos después de lo cual se añadió gota a gota una solución de (3-bromo-7-metil-2-naftil)(hidroxi)metilfosfonato de dietilo (160 mg) en 2,5 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La reacción se agitó durante 1 h a  $-78^{\circ}\text{C}$  después de lo cual se añadió trietilamina (0,66 ml) a la mezcla y la temperatura se elevó hasta la temperatura ambiente. Se añadió agua (5 ml) y la mezcla se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporaron a sequedad para proporcionar el producto del título que se utilizó como tal en la siguiente etapa.

25

30 Etapa 4: (3-bromo-7-metil-2-naftil)(difluoro)metilfosfonato de dietilo

A una solución de 3-bromo-7-metil-2-naftoilfosfonato de dietilo (160 mg), en  $\text{CHCl}_3$  (3 ml) a  $-78^{\circ}\text{C}$  se añadió trifluoruro de (dietilamino)azufre (0,44 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 h y después se vertió sobre la mezcla de hielo/agua/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Los extractos orgánicos se lavaron con  $\text{NH}_4\text{OH}$  al 50 % en agua y con salmuera. Los extractos se secaron después sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporaron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con hexanos/EtOAc al 40 % para proporcionar el producto del título.

35

Etapa 5: [3-bromo-7-(bromometil)-2-naftil](difluoro)metilfosfonato de dietilo

5 A una solución de (3-bromo-7-metil-2-naftil)(difluoro)metilfosfonato de dietilo (200 mg), en CCl<sub>4</sub> (12 ml) se añadió NBS (90 mg) y una cantidad catalítica de peróxido de benzilo. La mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas y después se diluyó con hexanos. La solución se filtró a través de un lecho de Celite y se lavó con hexanos. Los hexanos lavados se evaporaron a sequedad para proporcionar el producto del título.

Etapa 6: {6-bromo-7-[(dietoxifosforil)(difluoro)metil]-2-naftil}metilfosfonato de dietilo

10 A una solución de fosfito de dietilo (0,22 ml) en tolueno (5 ml) a 0°C se añadió NaH (al 60 % en aceite mineral, 20 mg). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y después se añadió gota a gota una solución de [3-bromo-7-(bromometil)-2-naftil](difluoro)metilfosfonato de dietilo (220 mg) en tolueno (2 ml). La reacción se agitó durante 1 h a 0°C, se inactivó con una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl, se extrajo con EtOAc y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Los extractos orgánicos se evaporaron a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con EtOAc/hexanos al 50 % para proporcionar el compuesto del título.

15

Etapa 7: 3-((E)-2-{6-bromo-7-[(dietoxifosforil)(difluoro)metil]-2-naftil}etenil)benzoato de metilo

20 A una solución de {6-bromo-7-[(dietoxifosforil)(difluoro)metil]-2-naftil}metilfosfonato de dietilo (190 mg) y 3-formilbenzoato de metilo (60 mg) en THF desgasificado (5 ml) a -78°C se añadió *tert*-butóxido potásico (0,35 ml de una solución 1 M en THF) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0°C. La mezcla se inactivó con una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl, se extrajo con EtOAc, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con EtOAc/hexanos al 25 % para proporcionar el producto del título.

25

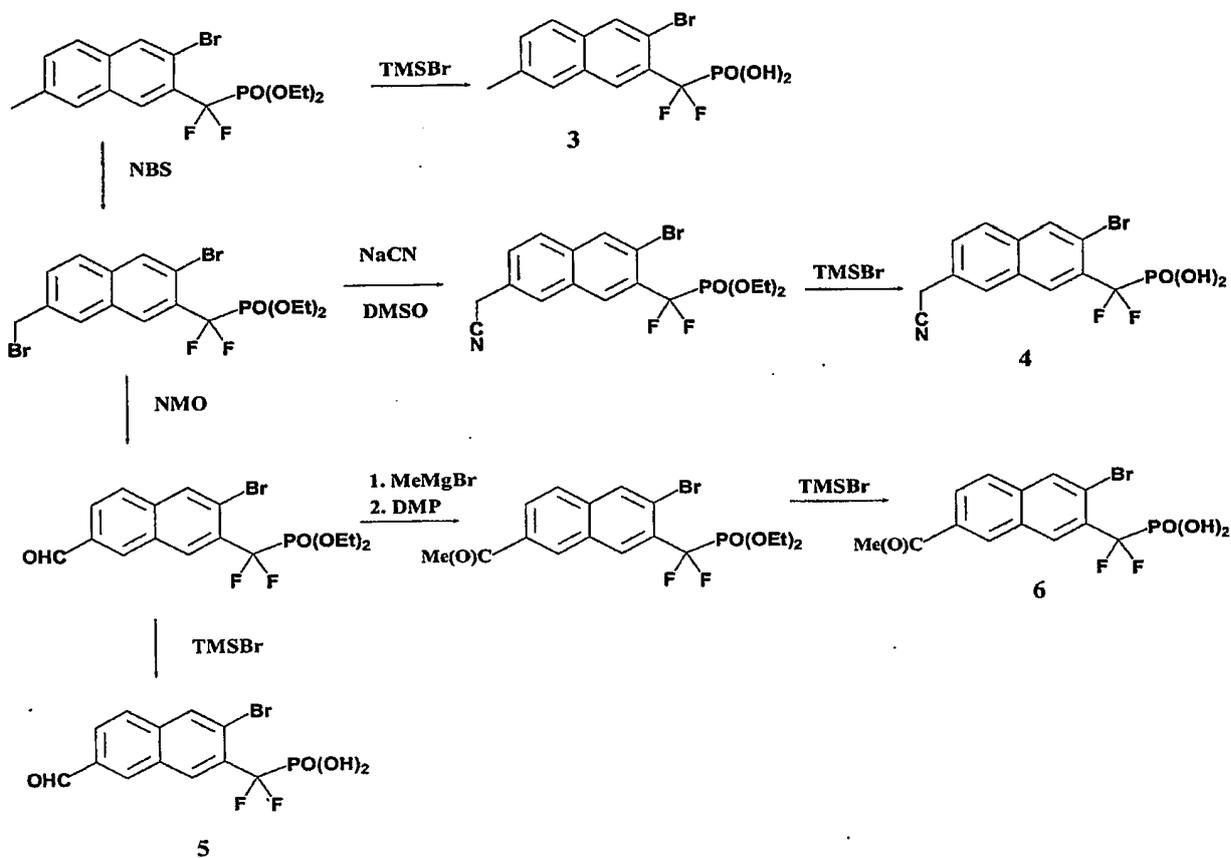
Etapa 8: Ácido 3-((E)-2-{6-bromo-7-[(difluoro(fosfono)metil]-2-naftil}etenil}benzoico

30 La hidrólisis de 3-((E)-2-{6-bromo-7-[(dietoxifosforil)(difluoro)metil]-2-naftil}etenil)benzoato de metilo (120 mg) de la etapa 7, se realizó utilizando TMSBr (2 ml) en 1 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en etanol. Se evaporó a sequedad de nuevo y el proceso se repitió 3 veces. El residuo de reacción se disolvió en agua y se trató con NaOH 1 N para proporcionar el producto del título como una sal de sodio. RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,84 (s, 1 H), 8,22 (s, 1 H), 8,12 (s, 1 H), 8,05 (s, 1 H), 7,88 (m, 2 H), 7,78 (d, 1 H), 7,70 (d, 1 H), 7,40 (m, 3 H).

35

## Ejemplos 3-6

## Esquema 3

**Ejemplo 3** Ácido (3-bromo-7-metil-2-naftil)(difluoro)metilfosfónico

Se hidrolizó (3-bromo-7-metil-2-naftil)(difluoro)metilfosfonato de dietilo (0,1 g de la etapa 4, ejemplo 2) con 2 ml de TMSBr en 1 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en etanol. Se evaporó a sequedad de nuevo y el proceso se repitió 3 veces. El residuo de la reacción se disolvió en agua y se trató con NaOH 1 N para proporcionar el producto del título como una sal de sodio.

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8,15 (d, 2 H), 7,70 (m, 2 H), 7,45 (d, 1 H), 2,50 (s, 3 H).

**Ejemplo 4** Ácido [3-bromo-7-(cianometil)-2-naftil](difluoro)metilfosfónico

A una solución de [3-bromo-7-(bromometil)-2-naftil](difluoro)metilfosfonato de dietilo (0,06 g de la etapa 5, ejemplo 2) en 3 ml de DMSO se añadió NaCN (18 mg). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se inactivó con agua y se extrajo dos veces con éter. El extracto orgánico se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con EtOAc/hexanos al 20 % para proporcionar el éster de fosfonato (20 mg): el [3-bromo-7-(cianometil)-2-naftil](difluoro)metilfosfonato de dietilo se hidrolizó en 2 ml de TMSBr a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en etanol. Se evaporó a sequedad de nuevo y el proceso se repitió 3 veces. El residuo de reacción se disolvió en agua y se trató con NaOH 1 N para proporcionar el producto del título como una sal de sodio.

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  8,40 (d, 1 H), 8,34 (s, 1 H), 8,13 (s, 1 H), -8,05 (d, 1 H), 7,72 (d, 1 H), 4,20 (s, 2 H).

**Ejemplo 5** Ácido (3-bromo-7-formil-2-naftil)(difluoro)metilfosfónico

A una solución de [3-bromo-7-(bromometil)-2-naftil](difluoro)metilfosfonato de dietilo (0,2 g de la etapa 5, ejemplo 2) en 5 ml de dioxano se añadió N-óxido de N-metilmorfolina (0,17 g). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 h. La mezcla se inactivó con una solución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y la mezcla se extrajo con EtOAc y el extracto se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida eluyendo con EtOAc/hexanos al 10-20 % para proporcionar (3-bromo-7-formil-2-naftil)(difluoro)metilfosfonato de dietilo (0,15

gramos) que se hidrolizó con TMSBr (2 ml) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 ml) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en etanol. Se evaporó a sequedad de nuevo y el proceso se repitió 3 veces. El residuo de reacción se disolvió en agua y se trató con NaOH 1 N para proporcionar el producto del título como una sal de sodio.

5 RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 10,22 (s, 1 H), 8,70 (s, 1 H), 8,51 (s, 1 H), 8,42 (s, 1 H), 8,09 (m, 2 H).

**Ejemplo 6** Ácido (7-acetil-3-bromo-2-naftil)(difluoro)metilfosfónico

10 Etapa 1: [3-bromo-7-(1-hidroxietil)-2-naftil](difluoro)metilfosfonato de dietilo

A una solución de (3-bromo-7-formil-2-naftil)(difluoro)metilfosfonato de dietilo (0,1 g del ejemplo 5) en THF (1 ml) a -78°C se añadió MeMgBr (79 µl de una solución 3 N en THF). La temperatura se elevó a 0°C y se agitó durante 1 h. La mezcla se inactivó con una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl, se extrajo con EtOAc, los extractos orgánicos se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporaron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida utilizando hexanos/EtOAc al 10-30 % para proporcionar el producto del título.

15

Etapa 2: (7-acetil-3-bromo-2-naftil)(difluoro)metilfosfonato de dietilo

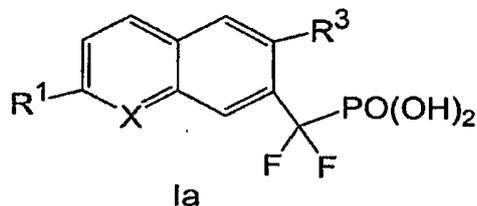
20 A una solución de [3-bromo-7-(1-hidroxietil)-2-naftil](difluoro)metilfosfonato de dietilo (20 mg) de la etapa 1, en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml) a 0°C se añadió reactivo de Dess-Martin (24 mg). La temperatura se elevó a temperatura ambiente y la reacción se agitó durante 1 h. La reacción se filtró sobre un lecho de SiO<sub>2</sub> eluyendo con EtOAc/hexanos al 30 % y los orgánicos se evaporaron a sequedad. El residuo se disolvió y se hidrolizó con TMSBr puro (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en etanol. Se evaporó a sequedad de nuevo y el proceso se repitió 3 veces. El residuo de reacción se disolvió en agua, se codestiló con tolueno y se bombeó con alto vacío para proporcionar el producto del título.

25

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,79 (d, 1 H), 8,50 (s, 1 H), 8,39 (s, 1 H), 8,15 (d, 1 H) ., 8,02 (d, 1 H), 2,75 (s, 3 H)

**REIVINDICACIONES**

1. El compuesto que tiene la Fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



5

X es CH;

R<sup>1</sup> se selecciona entre el grupo que consiste en (a) alquilo C<sub>1-3</sub> opcionalmente sustituido con 1-3 halógenos y opcionalmente sustituido con -CN, (b) -C(=O)H, (c) -C(=O)alquilo C<sub>1-3</sub> y (d) -CH=CH-fenilo en el que el fenilo está sustituido con -C(=O)OH; y

10

R<sup>3</sup> es Br.

2. El compuesto de Fórmula Ia como se ha definido en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado entre los siguientes compuestos:

15

Ej.	Estructura	Ej.	Estructura
2		3	
4		5	
6			

3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20

4. El uso de un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2.

5. Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2.

25

6. Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer.

30 7. Una composición farmacéutica que comprende

(1) un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(2) uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en:

35

(a) agonistas y agonistas parciales del PPAR gamma;

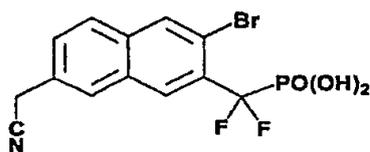
(b) biguanidas;

(c) agonistas del GPR40;

- (d) inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP-IV);
- (e) insulina o insulinomiméticos;
- (f) sulfonilureas;
- (g) inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa;
- (h) agentes que mejoran el perfil lipídico del paciente, estando dichos agentes seleccionados entre el grupo que consiste en (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa, (ii) secuestradores de ácidos biliares, (iii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico o una sal del mismo, (iv) agonistas del PPAR $\alpha$ , (v) inhibidores de la absorción del colesterol, (vi) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT), (vii) inhibidores de la CETP y (viii) antioxidantes fenólicos;
- (i) agonistas duales del PPAR $\alpha/\gamma$ ;
- (j) agonistas del PPAR $\delta$ ;
- (k) compuestos antiobesidad;
- (l) inhibidores del transportador ileal de ácidos biliares;
- (m) agentes anti-inflamatorios;
- (n) antagonistas del receptor de glucagón;
- (o) GLP-1;
- (p) GIP-1;
- (q) análogos de la GLP-1 y
- (r) inhibidores de la HSD-1 y

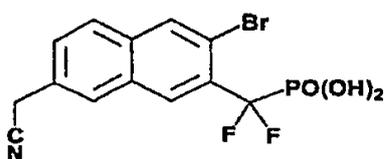
(3) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

8. El compuesto de Fórmula la como se ha definido en la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que dicho compuesto es:



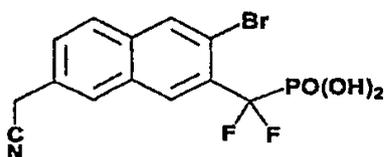
(4).

9. Una composición farmacéutica de la reivindicación 3, en la que el compuesto de la reivindicación 1 es un compuesto de fórmula (4):



(4).

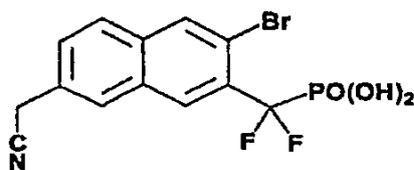
10. El compuesto de la reivindicación 5, donde el compuesto de la reivindicación 1 es un compuesto de fórmula (4)



(4).

11. Una composición farmacéutica de la reivindicación 9 que comprende

(1) un primer compuesto de fórmula (4)



(4),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(2) un segundo compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

5

(a) agonistas y agonistas parciales del PPAR gamma;

(b) biguanidas;

(c) agonistas del GPR40;

10

(d) inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP-IV);

(e) insulina o un insulinoimético;

(f) sulfonilureas;

(g) inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa;

15

(h) agentes que mejoran el perfil lipídico del paciente, estando dichos agentes seleccionados entre el grupo que consiste en (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa, (ii) secuestradores de ácidos biliares, (iii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico o una sal del mismo, (iv) agonistas del PPAR $\alpha$ , (v) inhibidores de la absorción del colesterol, (vi) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT), (vii) inhibidores de la CETP y (viii) antioxidantes fenólicos;

(i) agonistas duales del PPAR $\alpha$ / $\gamma$ ;

(j) agonistas del PPAR $\delta$ ;

20

(k) compuestos antiobesidad;

(l) inhibidores del transportador ileal de ácidos biliares;

(m) agentes anti-inflamatorios;

(n) antagonistas del receptor de glucagón;

25

(o) GLP-1;

(p) GIP-1;

(q) análogos de la GLP-1 y

(r) inhibidores de la HSD-1 y

(3) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

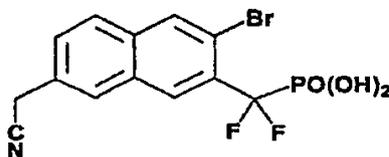
30

12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11, en la que dicha biguanida es metformina.

13. La composición farmacéutica de la reivindicación 11, en la que dicho inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV es uno de entre sitagliptina, saxagliptina o vildagliptina, o una sal farmacéuticamente sal aceptable de cada uno de los mismos.

35

14. El compuesto de la reivindicación 5, donde el compuesto de la reivindicación 1 es un compuesto de fórmula (4)



(4)

40

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un segundo compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

(a) agonistas y agonistas parciales del PPAR gamma;

(b) biguanidas;

45

(c) agonistas del GPR40;

(d) inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP-IV);

(e) insulina o insulinoiméticos;

(f) sulfonilureas;

50

(g) inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa;

- (h) agentes que mejoran el perfil lipídico del paciente, estando dichos agentes seleccionados entre el grupo que consiste en (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa, (ii) secuestradores de ácidos biliares, (iii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico o una sal del mismo, (iv) agonistas del PPAR $\alpha$ , (v) inhibidores de la absorción del colesterol, (vi) inhibidores de la acil CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT), (vii) inhibidores de la CETP y (viii) antioxidantes fenólicos;
- 5 (i) agonistas duales del PPAR $\alpha/\gamma$ ;
- (j) agonistas del PPAR $\delta$ ;
- (k) compuestos antiobesidad;
- 10 (l) inhibidores del transportador ileal de ácidos biliares;
- (m) agentes anti-inflamatorios;
- (n) antagonistas del receptor de glucagón;
- (o) GLP-1;
- (p) GIP-1;
- 15 (q) análogos de la GLP-1 y
- (r) inhibidores de la HSD-1 y

para uso en el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2.

**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al compilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

5

**Documentos de patente citados en la descripción**

- WO 2006055525 A [0010]
- WO 2005100298 A [0053]
- WO 2006014413 A [0053]
- WO 2006014357 A [0053]
- WO 0208188 A [0070]
- WO 2004020408 A [0070]
- WO 2004020409 A [0070]
- WO 9728149 A [0070]

**Documentos no literatura patente citados en la descripción**

10

- **FISCHER et al.** *Science*, 1991, vol. 253, 401-406 [0002]
- **CHARBONNEAU et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, 5252-5256 [0002]
- **GOLDSTEIN.** *Receptor*, 1993, vol. 3, 1-15 [0002]
- **WHITE ; KAHN.** *J. Biol. Chem.*, 1994, vol. 269, 1-4 [0003]
- **KENNEDY et al.** *Science*, 1999, vol. 283, 1544-1548 [0004]
- **ZINKER et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, 11357 [0005]
- **LIU et al.** *J Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, 31290-31295 [0007]
- **KENNETH et al.** *Mol Cell Biol*, 1998, vol. 18, 2965-2975 [0007]
- **WEINER et al.** *J Natl. Cancer Inst.*, 1996, vol. 86, 372-378 [0007]
- **MONTALIBET J. et al.** Residues distant from the active site influence protein-tyrosine phosphatase 1B inhibitor binding. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281 (8), 5258-5266 [0009]
- **MONTALIBET et al.** *Biochemical Pharmacology*, 2004, vol. 68, 1807-1814 [0014]
- **MONTALIBET et al.** *Journal of Biological Chemistry*, 2006, vol. 281 (8), 5258-5266 [0014]
- **R. SINGH ; G.M. WHITESIDES.** *J. Org. Chem.*, 1991, vol. 56, 2332-2337 [0073]
- **HUYER et al.** *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, 843-852 [0074]
- **P.J. HUBER.** *Robust Statistics.* Wiley, 1981 [0080]
- *A manual for Methods for Baculovirus Vectors and Insect Culture Procedures (Bulletin No. 1555).* **SUMMERS ; SMITH.** Texas Agricultural Experiment Station. 1987 [0107]
- **SUN, Q. ; LAVOIE E .J.** *Heterocycles*, 1996, vol. 43 (4), 737-743 [0114]