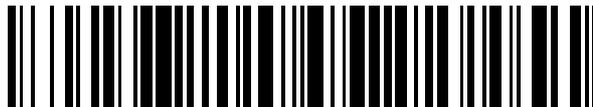


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 835**

51 Int. Cl.:

C07D 471/10 (2006.01)

C07D 487/10 (2006.01)

A61K 31/4155 (2006.01)

A61K 31/438 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.05.2013 PCT/US2013/039164**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.11.2013 WO13169546**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.05.2013 E 13722231 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2016 EP 2850084**

54 Título: **Compuestos de pirazol como inhibidores de SGLT1**

30 Prioridad:

10.05.2012 US 201261645101 P

26.02.2013 US 201361769221 P

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

07.11.2016

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)

Lilly Corporate Center

Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

QU, FUCHENG y

MANTLO, NATHAN BRYAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 588 835 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

Compuestos de pirazol como inhibidores de SGLT1

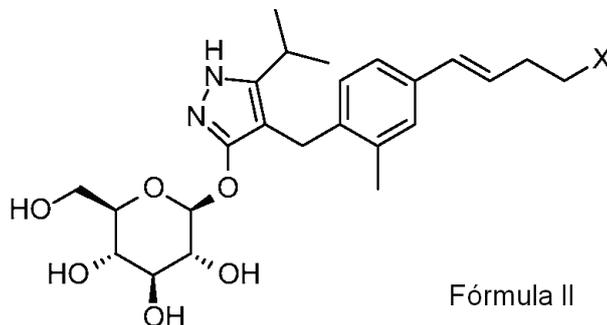
La presente invención se refiere a nuevos compuestos de pirazol, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, a los compuestos para su uso para tratar trastornos fisiológicos, y a compuestos intermedios y procedimientos útiles en la síntesis de los compuestos.

La presente invención pertenece al campo del tratamiento de la diabetes y otras enfermedades y trastornos asociados con hiperglucemia. La diabetes es un grupo de enfermedades que se caracterizan por altos niveles de glucosa en sangre. Afecta aproximadamente a 25 millones de personas en los Estados Unidos y también ocupa el 7º lugar como causante de muerte en Estados Unidos de acuerdo con la National Diabetes Fact Sheet de 2011 (Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades). Los cotransportadores de glucosa acoplados a sodio (SGLT) son uno de los transportadores conocidos por ser responsables de la absorción de carbohidratos, tales como glucosa. Más específicamente, SGLT1 es responsable del transporte de glucosa a través la membrana de borde en cepillo del intestino delgado. La inhibición de SGLT1 puede dar como resultado la reducción de la absorción de glucosa en el intestino delgado, proporcionando de ese modo un enfoque útil para tratar la diabetes.

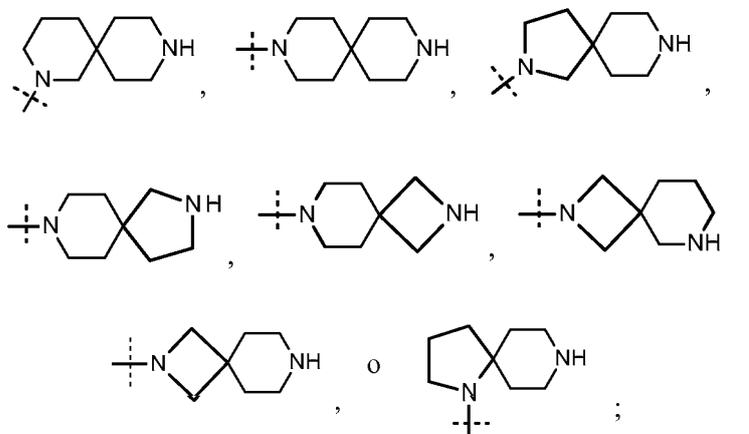
El documento de Patente de Estados Unidos n.º 7.655.632 desvela ciertos derivados de pirazol con actividad inhibidora de SGLT1 humano que se desvelan además como útiles para la prevención o el tratamiento de una enfermedad asociada a hiperglucemia, tal como diabetes. Además, el documento de Patente WO 2011/039338 desvela ciertos derivados de pirazol con actividad inhibidora de SGLT1/SGLT2 que se desvelan además como útiles para el tratamiento de enfermedades óseas, tales como osteoporosis.

Existe la necesidad de fármacos y tratamientos alternativos para diabetes. La presente invención proporciona ciertos inhibidores nuevos de SGLT1 que pueden ser adecuados para el tratamiento de diabetes.

Por lo tanto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula II:

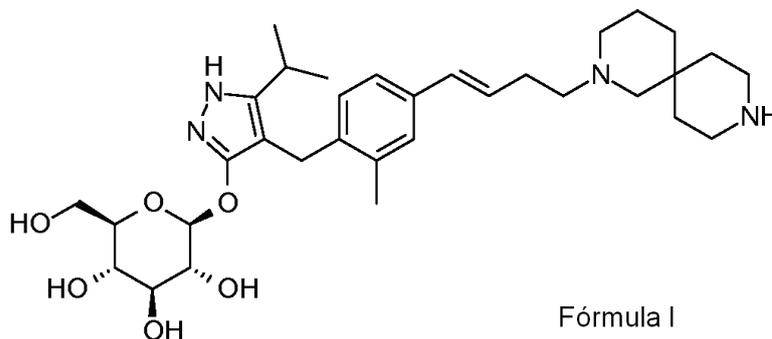


en la que X representa lo siguiente:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención también proporciona un compuesto de Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia, en particular para su uso en el tratamiento de diabetes. Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de diabetes de tipo 1. Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de diabetes de tipo 2. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de diabetes. Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de diabetes de tipo 1. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de diabetes de tipo 2. La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de IGT, IFG, o síndrome metabólico.

La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmulas I o II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización particular, la composición comprende además uno o más agentes terapéuticos distintos. La presente invención también incluye nuevos compuestos intermedios y procedimientos para la síntesis del compuesto de Fórmulas I o II.

Como se usa en el presente documento, los términos "tratamiento" o "tratar" incluyen impedir, contener, ralentizar, detener, o revertir el progreso o la gravedad de un síntoma o trastorno existente.

Como se usa en el presente documento, el término "paciente" se refiere a un mamífero, tal como un ratón, cobaya, rata, perro, o ser humano. Se ha de entender que el paciente preferente es un ser humano.

Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis de compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que, después de administración de dosis individual o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente en diagnóstico o tratamiento.

Una cantidad eficaz se puede determinar fácilmente por el médico asistente, como experto en la materia, mediante el uso de técnicas conocidas y por observación de los resultados obtenidos en circunstancias análogas. En la determinación de la cantidad eficaz para un paciente, el médico diagnóstico asistente considera diversos factores por, que incluyen, pero no se limitan a: la especie de mamífero; su tamaño, edad, y salud general; la enfermedad o trastorno específico implicado; el grado de implicación o la gravedad de la enfermedad o el trastorno; la respuesta del paciente individual; el compuesto particular administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosificación seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias pertinentes.

Los compuestos de Fórmulas I y II son generalmente eficaces en un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones por día están normalmente dentro del intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado anteriormente pueden ser más que adecuados, aunque en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores sin causar ningún efecto secundario perjudicial, y por lo tanto no se pretende que el intervalo de dosificación anterior limite el alcance de la invención de ningún modo.

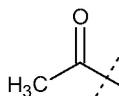
Los compuestos de la invención se formulan preferentemente en forma de composiciones farmacéuticas administradas mediante cualquier ruta que haga disponible el compuesto. Lo más preferentemente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y los procedimientos para preparar las mismas se conocen bien en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

En un aspecto adicional de la invención, los presentes compuestos se administran en combinación con uno o más agentes terapéuticos, tales como agentes antidiabéticos. La administración en combinación incluye la administración simultánea o secuencial. Además, la administración simultánea de la combinación puede ser en forma de una dosis de combinación individual o de dosis distintas que cada agente terapéutico. Algunos ejemplos de agentes antidiabéticos incluyen metformina; un inhibidor de DPPIV, tal como sitagliptina o linagliptina; una sulfonilurea, tal como glimepirida; una tiazolidinadiona, tal como pioglitazona; una insulina basal, tal como glargina; una insulina de acción rápida, tal como HUMALOG o NOVLOG; un agonista de GLP-1, tal como exenatida o liraglutida; un inhibidor de SGLT2, tal como dapagliflozina o empagliflozina; un antagonista del receptor de glucagón, tal como LY2409021; y similares.

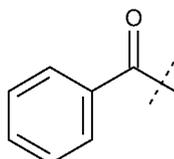
Los compuestos de Fórmulas I y II se preparan como se ilustra tanto en los ejemplos como en los esquemas posteriores. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles para el experto habitual en la materia. Todos los sustituyentes, a menos que se indique otra cosa, son como se han definido anteriormente. Se entiende que estos esquemas, preparaciones, y ejemplos no se pretende que sean limitantes del alcance de la invención de ningún modo.

Algunos ejemplos de resoluciones incluyen técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (véase, por ejemplo, J. Jacques, y col., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley & Sons, Inc., 1981, y E.L. Eliel y S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Debería ser muy evidente para el experto habitual en la materia que la separación y el aislamiento, por cromatografía, cromatografía quiral o cristalización selectiva, de los diastereómeros o isómeros geométricos individuales de Fórmula I o II, o los diastereómeros o isómeros geométricos individuales de los compuestos intermedios que conducen a la Fórmula I o II, se pueden producir en cualquier punto conveniente de la síntesis.

Como se usa en el presente documento, "δ" se refiere a partes por millón campo abajo del tetrametilsilano; "min" se refiere a minuto o minutos; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "MeOH" se refiere a metanol o alcohol metílico; "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; el término "Ac" se refiere a un sustituyente acetilo de la siguiente estructura:



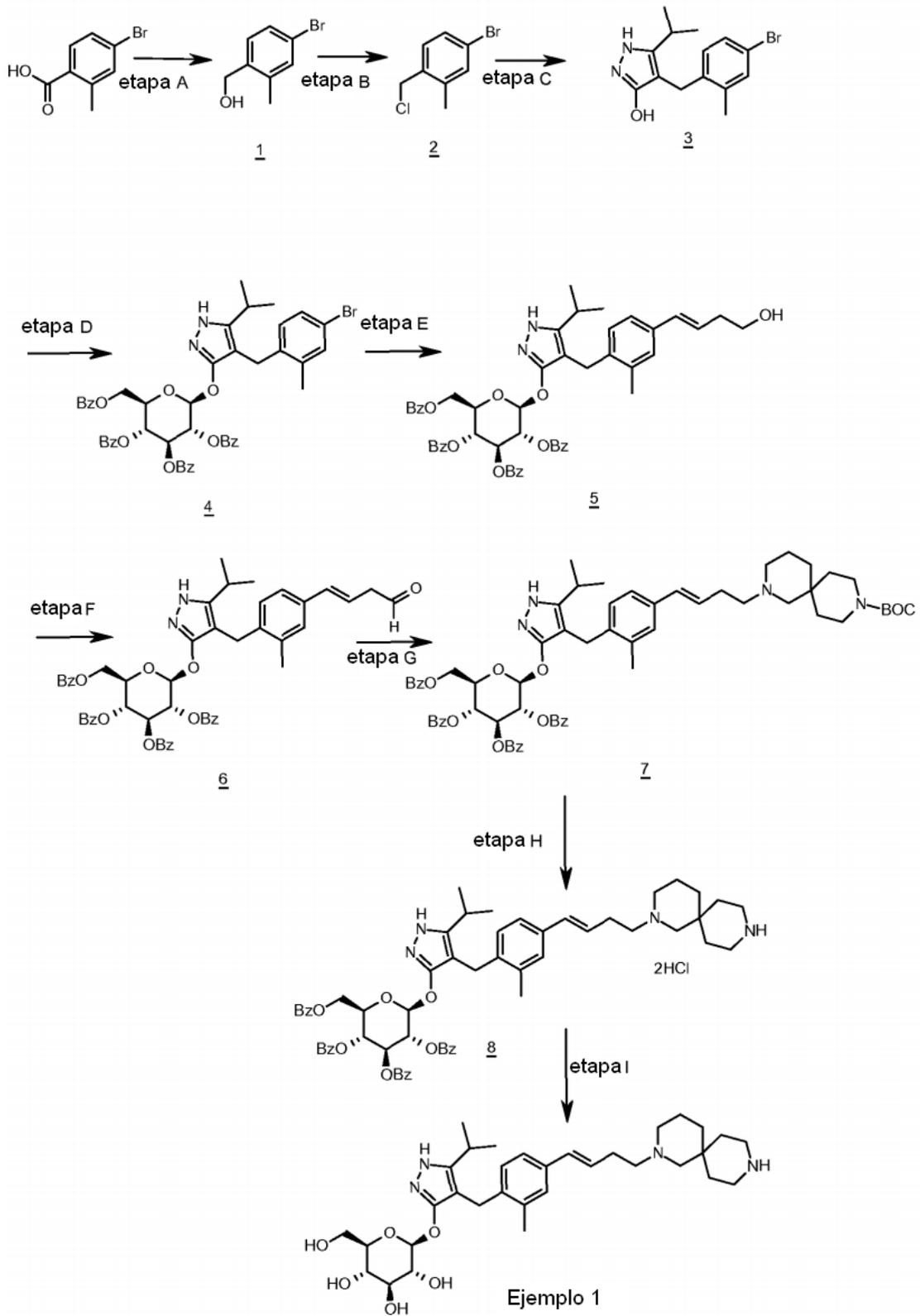
El término "Bz" se refiere a un sustituyente benzoílo de la siguiente estructura:



El término "BOC" se refiere a un grupo protector t-butiloxicarbonilo.

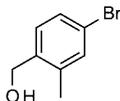
Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología habitual para prepararlas se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs," International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986); Bastin y col. "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities", Organic Process Research and Development, 4: 427-435 (2000); y S.M. Berge, y col., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, n.º 1, enero de 1977. El experto en la materia de la síntesis entenderá que los compuestos de Fórmula I y II, como aminas, son bases orgánicas, y que se convierten fácilmente en y se aíslan en forma de sales farmacéuticamente aceptables, tales como sales de tartrato o HCl, usando técnicas y condiciones bien conocidas por el experto habitual en la materia.

Esquema 1



Preparación 1

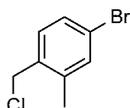
Síntesis de (4-bromo-2-metil-fenil)metanol



- 5 Esquema 1, etapa A: añadir borano-tetrahidrofurano complejo de (0,2 mol, 200 ml, solución 1,0 M) a una solución de ácido 4-bromo-2-metilbenzoico (39 g, 0,18 mol) en tetrahidrofurano (200 ml). Después de 18 horas a temperatura ambiente, retirar el disolvente a presión reducida para dar un sólido. Purificar por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (32,9 g, 0,16 mol). RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,55 (s, 1H), 2,28 (s, 3H), 4,61 (s, 2H), 7,18-7,29 (m, 3H).

Síntesis alternativa de (4-bromo-2-metil-fenil)metanol

- 10 Se añade lentamente complejo de borano-sulfuro de dimetilo (2 M en THF; 116 ml, 0,232 mol) a una solución de ácido 4-bromo-2-metilbenzoico (24,3 g, 0,113 mol) en tetrahidrofurano anhidro (THF, 146 ml) a 3 °C. Después de agitar en frío durante 10 min el baño de refrigeración se retira y la reacción se deja calentar lentamente a temperatura ambiente. Después de 1 hora, la solución se enfría a 5 °C, y se añade lentamente agua (100 ml). Se añade acetato de etilo (100 ml) y las fases se separan. La fase orgánica se lava con solución saturada acuosa de NaHCO₃ (200 ml) y se seca sobre Na₂SO₄. La filtración y la concentración a presión reducida da un residuo que se purifica por filtración a través de un lecho corto de sílice eluyendo con un 15 % de acetato de etilo/iso-hexano para dar el compuesto del título (20,7 g, 91,2 % de rendimiento). EM (m/z): 183/185 (M+1-18).
- 15

Preparación 2Síntesis de 4-bromo-1-clorometil-2-metil-benceno

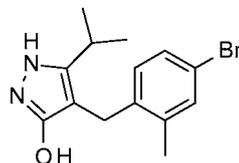
- 20 Esquema 1, etapa B: añadir cloruro de tionilo (14,31 ml, 0,2 mol,) a una solución de (4-bromo-2-metil-fenil)metanol (32,9 g, 0,16 mol) en diclorometano (200 ml) y dimetilformamida (0,025 mol, 2,0 ml) a 0 °C. Después de 1 hora a temperatura ambiente verter la mezcla en hielo-agua (100 g), extraer con diclorometano (300 ml), lavar el extracto con bicarbonato sódico ac. al 5 % (30 ml) y solución salina saturada (200 ml), secar sobre sulfato sódico, y concentrar a presión reducida para dar el compuesto del título en bruto en forma de un sólido de color blanco (35,0 g, 0,16 mol). El material se usa para la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional. RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,38 (s, 3H), 4,52 (s, 2H), 7,13-7,35 (m, 3H).
- 25

Síntesis alternativa de 4-bromo-1-clorometil-2-metil-benceno

- 30 Se añade lentamente cloruro de metanosulfonilo (6,83 ml, 88,3 mmol) a una solución de (4-bromo-2-metil-fenil)metanol (16,14 g, 80,27 mmol) y trietilamina (16,78 ml; 120,4 mmol) en diclorometano (80,7 ml) enfriada en hielo/agua. La mezcla se deja calentar lentamente a temperatura ambiente y se agita durante 16 horas. Se añade una cantidad adicional de cloruro de metanosulfonilo (1,24 ml; 16,1 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añade agua (80 ml) y las fases se separan. La fase orgánica se lava con ácido clorhídrico (1 N; 80 ml) a continuación solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato sódico (80 ml), a continuación agua (80 ml), y se seca sobre Na₂SO₄. La filtración y la concentración a presión reducida da un residuo que se purifica por cromatografía ultrarrápida (eluyendo con hexano) para dar el compuesto del título (14,2 g; 80,5 % de rendimiento). RMN ¹H (300,11 MHz, CDCl₃): δ 7,36-7,3 (m, 2H), 7,18 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 4,55 (s, 2H), 2,41 (s, 3H).
- 35

Preparación 3

Síntesis de 4-[(4-bromo-2-metil-fenil)metil]-5-isopropil-1H-pirazol-3-ol



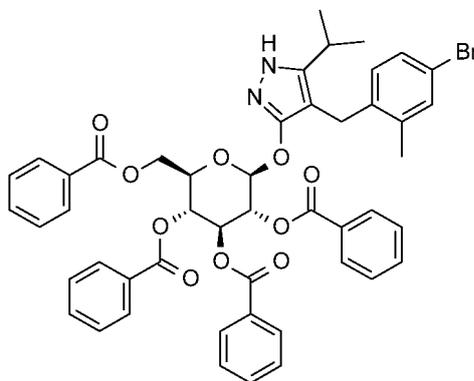
Esquema 1, etapa C: añadir hidruro sódico (8,29 g, 0,21 mol, dispersión al 60 % en aceite) a una solución de 4-metil-3-oxovalerato de metilo (27,1 ml, 0,19 mol) en tetrahidrofurano a 0 °C. Después de 30 min a temperatura ambiente, añadir una solución de 4-bromo-1-clorometil-metil-benceno (35,0 g, 0,16 mol) en tetrahidrofurano (50 ml). Calentar la mezcla resultante a 70 °C durante una noche (18 horas). Añadir HCl 1,0 M (20 ml) para interrumpir la reacción. Extraer con acetato de etilo (200 ml), lavar el extracto con agua (200 ml) y solución salina saturada (200 ml), secar sobre Na₂SO₄, filtrar y concentrar a presión reducida. Disolver el residuo resultante en tolueno (200 ml) y añadir monohidrato de hidrazina (23,3 ml, 0,48 mol). Calentar la mezcla a 120 °C durante 2 horas con un aparato de Dean-Stark para retirar agua. Enfriar y retirar el disolvente a presión reducida, disolver el residuo con diclorometano (50 ml) y metanol (50 ml). Verter esta solución lentamente en un vaso de precipitados con agua (250 ml). Recoger el producto precipitado resultante por filtración al vacío. Secar al vacío en un horno durante una noche a 40 °C para producir el compuesto del título en forma de un sólido (48,0 g, 0,16 mol). EM (m/z): 311,0 (M+1), 309,0 (M-1).

15 Síntesis alternativa de 4-[(4-bromo-2-metil-fenil)metil]-5-isopropil-1H-pirazol-3-ol

Se prepara una solución de 4-bromo-1-clorometil-2-metil-benceno (13,16 g, 59,95 mmol) en acetonitrilo (65,8 ml). Se añaden carbonato potásico (24,86 g, 179,9 mmol), yoduro potásico (11,94 g, 71,94 mmol) y 4-metil-3-oxovalerato de metilo (8,96 ml; 62,95 mmol). La mezcla resultante se agita a temperatura ambiente durante 20 horas. Se añade ácido clorhídrico (2 N) para dar pH 3. La solución se extrae con acetato de etilo (100 ml), la fase orgánica se lava con solución salina saturada (100 ml) y se seca sobre Na₂SO₄. La mezcla se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo se disuelve en tolueno (65,8 ml) y se añade monohidrato de hidrazina (13,7 ml, 0,180 mol). La mezcla resultante se calienta a reflujo y se retira el agua usando un aparato de Dean y Stark. Después de 3 horas la mezcla se enfría a 90 °C y se añade una cantidad adicional de monohidrato de hidrazina (13,7 ml; 0,180 mol) y la mezcla se calienta a reflujo durante 1 hora. La mezcla se enfría y se concentra a presión reducida. El sólido resultante se tritura con agua (200 ml), se filtra y se seca en un horno de vacío sobre P₂O₅ a 60 °C. El sólido se tritura en iso-hexano (200 ml) y se filtra para dar el compuesto del título (14,3 g; 77,1 % de rendimiento). EM (m/z): 309/311 (M+1).

Preparación 4

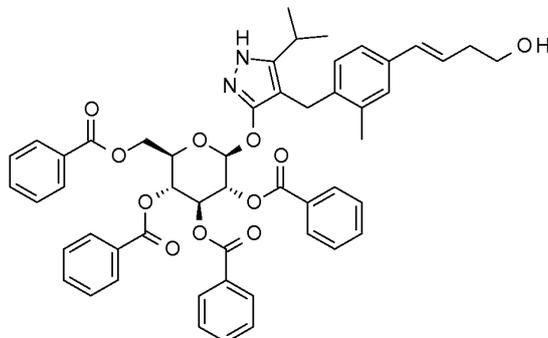
Síntesis de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-(4-bromo-2-metilbencil)-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



Esquema 1, etapa D: a un matraz de 1 l, añadir 4-[(4-bromo-2-metil-fenil)metil]-5-isopropil-1H-pirazol-3-ol (20 g, 64,7 mmol), bromuro tetrabenzoato de alfa-D-glucopiranosilo (50 g, 76 mmol), cloruro de benciltributilamonio (6 g, 19,4 mmol), diclorometano (500 ml), carbonato potásico (44,7 g, 323 mmol) y agua (100 ml). Agitar la mezcla de reacción durante una noche a temperatura ambiente. Extraer con diclorometano (500 ml). Lavar el extracto con agua (300 ml) y solución salina saturada (500 ml). Secar la fase orgánica sobre sulfato sódico, filtrar, y concentrar a presión reducida. Purificar el residuo por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (37 g, 64 mmol). EM (m/z): 889,2 (M+1), 887,2 (M-1).

Preparación 5

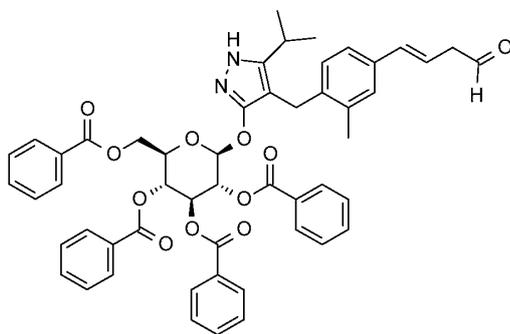
Síntesis de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-hidroxi-but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



- 5 Esquema 1, etapa E: añadir 3-buten-1-ol (0,58 ml, 6,8 mmol) a una solución de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-(4-bromo-2-metilbencil)-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (3 g, 3,4 mmol) en acetonitrilo (30 ml) y trietilamina (20 ml). Desgasificar la solución con nitrógeno durante 10 minutos. Añadir tri-*o*-tolilfosfina (205 mg, 0,67 mmol) y acetato de paladio (76 mg, 0,34 mmol). Calentar a reflujo a 90 °C durante 2 horas. Enfriar a temperatura ambiente y concentrar para retirar el disolvente a presión reducida. Purificar el residuo por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (2,1 g, 2,4 mmol). EM (m/z): 878,4 (M+1).
- 10

Preparación 6

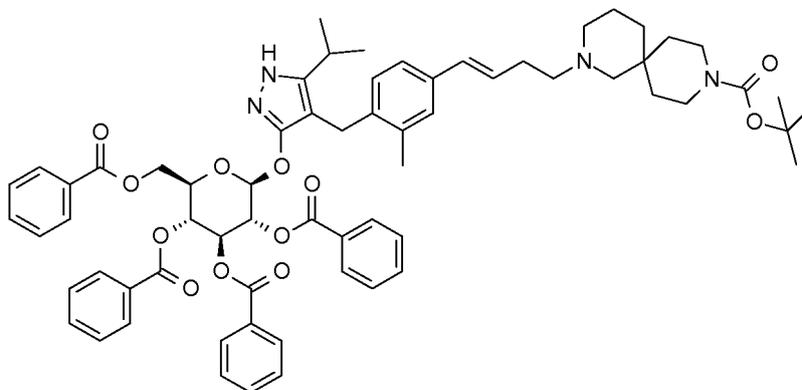
Síntesis de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-oxibut-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



- 15 Esquema 1, etapa F: añadir 3,3,3-triacetoxi-3-yodoftalida (134 mg, 0,96 mmol) a una solución de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-hidroxi-but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (280 mg, 0,32 mmol) y bicarbonato sódico (133,8 mg, 1,6 mmol) en diclorometano (20 ml) a 0 °C. Después de 15 minutos a temperatura ambiente, interrumpir la reacción con tiosulfato sódico acuoso saturado (10 ml). Extraer con diclorometano (30 ml). Lavar el extracto con agua (30 ml) y solución salina saturada (40 ml). Secar la fase orgánica sobre sulfato sódico, filtrar, y concentrar a presión reducida. Purificar el residuo resultante por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (270 mg, 0,31 mmol). EM (m/z): 876,5 (M+1), 874,5 (M-1).
- 20

Preparación 7

Síntesis de
 2-[(3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}{metil)fenil]but-3-en-1-il}{2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo

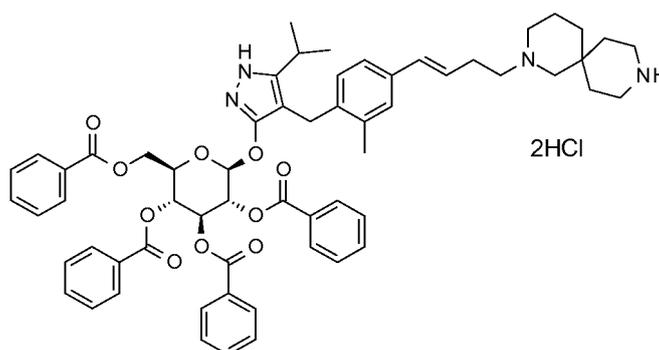


5

Esquema 1, etapa G: añadir triacetoxiborohidruro sódico (98 mg, 0,46 mmol) a una solución de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-oxibut-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (270 mg, 0,31 mmol) y clorhidrato de 2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (179 mg, 0,62 mmol) en 1,2-dicloroetano (5 ml). Después de 30 minutos a temperatura ambiente, interrumpir la reacción con bicarbonato sódico acuoso saturado (10 ml). Extraer con diclorometano (30 ml). Lavar el extracto con agua (30 ml) y solución salina saturada (40 ml), secar la fase orgánica sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar a presión reducida. Purificar el residuo resultante por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (275 mg, 0,25 mmol). EM (m/z): 1115,6 (M+ 1).

Preparación 8

Síntesis de diclorhidrato de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,9-diazaespiro[5.5]undec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo

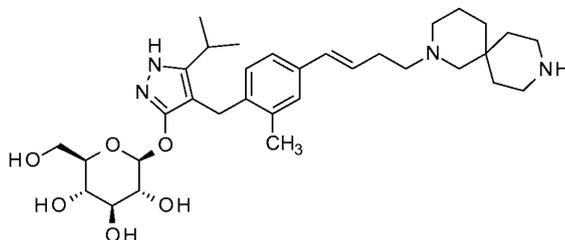


Esquema 1, etapa H: añadir cloruro de hidrógeno (solución 4,0 M en 1,4-dioxano, 0,6 ml, 2,4 mmol) a una solución de 2-[(3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}{metil)fenil]but-3-en-1-il}{2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (275 mg, 0,25 mmol) en diclorometano (5 ml). Después de una noche (18 horas) a temperatura ambiente, concentrar para retirar el disolvente a presión reducida para producir el compuesto del título en forma de un sólido (258 mg, 0,24 mmol). EM (m/z): 1015,6 (M+1).

20

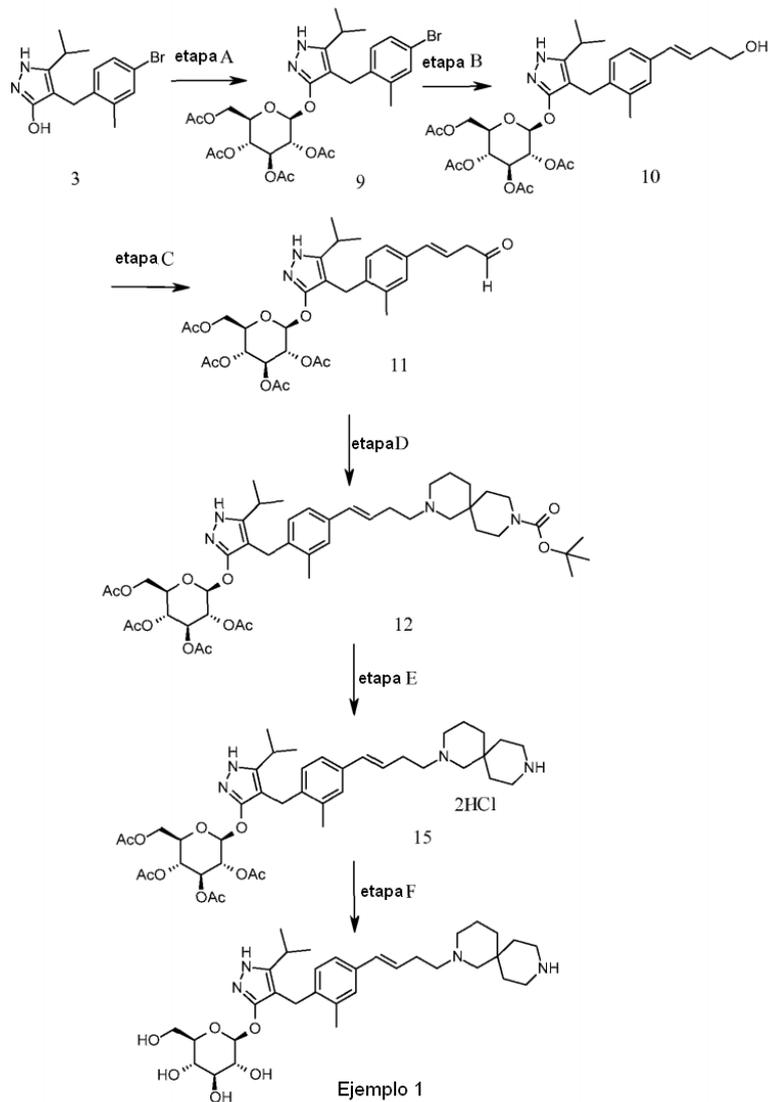
Ejemplo 1

Síntesis de beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,9-diazaespiro[5.5]undec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



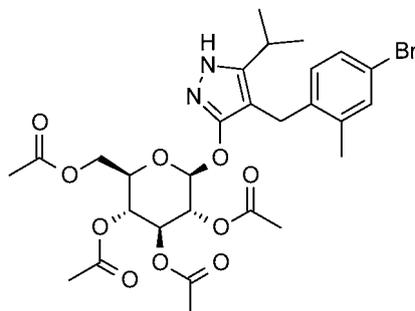
- 5 Esquema 1, etapa I: añadir hidróxido sódico (0,5 ml, 0,5 mmol, solución 1,0 M) a una solución de diclorhidrato de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,9-diazaespiro[5.5]undec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (258 mg, 0,24 mmol) en metanol (2 ml). Después de 2 horas a 40 °C, concentrar para retirar el disolvente a presión reducida para dar un residuo, que se purifica por un procedimiento de HPLC preparativa: pH alto, 25 % de B durante 4 min, 25-40 % de B durante 4 min @ 85 ml/min usando una columna C18XBridge ODB de 30 x 75 mm, 5 um, disolvente A - H₂O con NH₄HCO₃ @ pH 10, disolvente B - MeCN para producir el compuesto del título en forma de un sólido (46 mg, 0,08 mmol). EM (m/z): 598,8 (M+1), 596,8 (M-1).
- 10

Esquema 2



Preparación 9

Síntesis de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-(4-bromo-2-metilbencil)-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



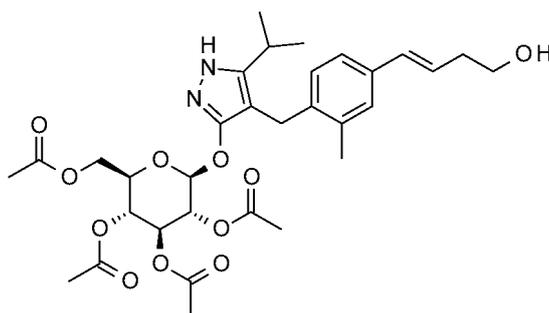
- 5 Esquema 2, etapa A: a un matraz de 1 l, añadir 4-[(4-bromo-2-metil-fenil)metil]-5-isopropil-1H-pirazol-3-ol (24 g, 77,6 mmol), bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-alfa-D-glucopiranosilo (50,4 g, 116 mmol), cloruro de benciltributilamonio (5 g, 15,5 mmol), diclorometano (250 ml), carbonato potásico (32 g, 323 mmol) y agua (120 ml). Agitar la mezcla de reacción durante una noche a temperatura ambiente. Extraer con diclorometano (450 ml). Lavar el extracto con agua (300 ml) y solución salina saturada (500 ml). Secar la fase orgánica sobre sulfato sódico, filtrar, y concentrar a presión reducida. Purificar el residuo resultante por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (36,5 g, 57 mmol). EM (m/z): 638,5 (M+1), 636,5 (M-1).
- 10

Síntesis alternativa de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-(4-bromo-2-metilbencil)-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo

- 15 Se combinan los reactivos 4-[(4-bromo-2-metil-fenil)metil]-5-isopropil-1H-pirazol-3-ol (24,0 g, 77,6 mmol), bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-alfa-D-glucopiranosilo (50,4 g, 116 mmol), cloruro de benciltributilamonio (4,94 g, 15,52 mmol), carbonato potásico (32,18 g, 232,9 mmol), diclorometano (250 ml) y agua (120 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se reparte entre diclorometano (250 ml) y agua (250 ml). La fase orgánica se lava con solución salina saturada (250 ml), se seca sobre Na₂SO₄, se filtra, y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía ultrarrápida (eluyendo con un 10 % de acetato de etilo en diclorometano hasta un 70 % de acetato de etilo en diclorometano) para dar el compuesto del título (36,5 g, 74 % de rendimiento). EM (m/z): 639/641 (M+1).
- 20

Preparación 10

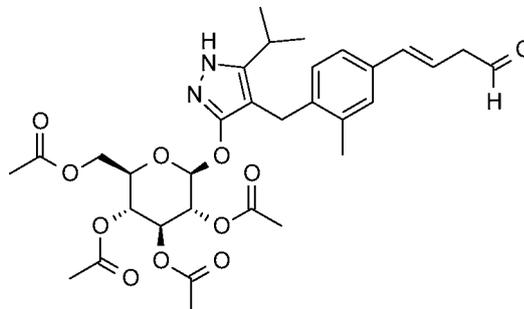
Síntesis de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-hidroxibut-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



- 25 Esquema 2, etapa B: añadir 3-buten-1-ol (6,1 ml, 70 mmol) a una solución de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-(4-bromo-2-metilbencil)-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (15 g, 23,5 mmol) en acetonitrilo (200 ml) y trietilamina (50 ml). Desgasificar la solución con nitrógeno durante 10 minutos. Añadir tri-*o*-tolilfosfina (1,43 g, 4,7 mmol) y acetato de paladio (526 mg, 2,35 mmol). Después de calentar a reflujo a 90 °C durante 2 horas, enfriar, y concentrar para retirar el disolvente a presión reducida. Purificar el residuo resultante por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (7,5 g, 11,9 mmol). EM (m/z): 631,2 (M+1), 629,2 (M-1).
- 30

Preparación 11

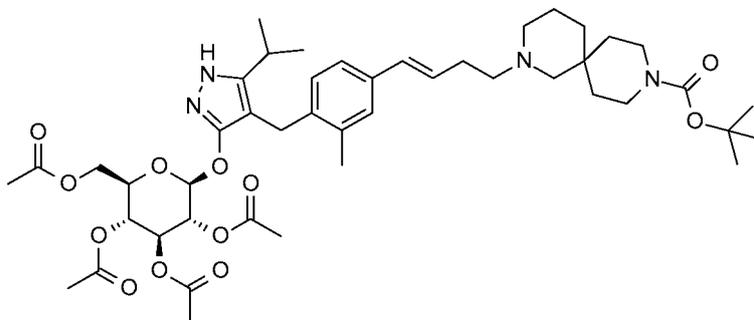
Síntesis de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-oxibut-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



- 5 Esquema 2, etapa C: añadir 3,3,3-triacetoxi-3-yodoftalida (2,1 g, 4,76 mmol) a una solución de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-hidroxi-but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (1,5 g, 2,38 mmol) y bicarbonato sódico (2 g, 23,8 mmol) en diclorometano (50 ml) a 0 °C. Después de 15 minutos a temperatura ambiente, interrumpir la reacción con tiosulfato sódico acuoso saturado (10 ml). Extraer con diclorometano (30 ml), lavar el extracto con agua (30 ml) y solución salina saturada (40 ml). Secar la fase orgánica sobre sulfato sódico, filtrar, y concentrar a presión reducida. Purificar el residuo resultante por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (0,95 g, 1,51 mmol). EM (m/z): 628,8(M+1), 626,8 (M-1).
- 10

Preparación 12

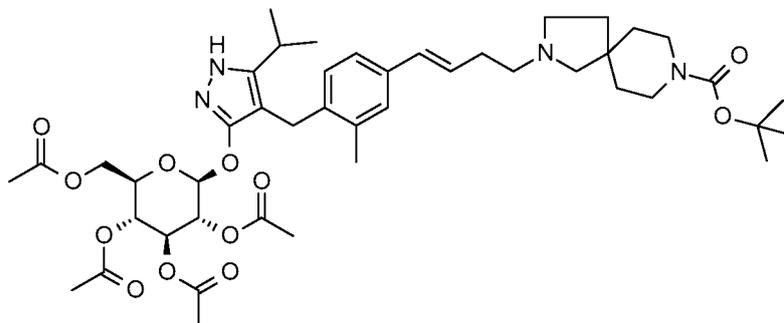
- 15 Síntesis de 2-1(3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}metil)fenil]but-3-en-1-il)-2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo



- 20 Esquema 2, Etapa D: añadir triacetoxiborohidruro sódico (303 mg, 1,4 mmol) a una solución de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-oxibut-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (600 mg, 0,95 mmol) y clorhidrato de 2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (333 mg, 1,2 mmol) en 1,2-dicloroetano (30 ml). Después de 30 minutos a temperatura ambiente, interrumpir la reacción con bicarbonato sódico acuoso saturado (15 ml). Extraer con diclorometano (60 ml). Lavar el extracto con agua (30 ml) y solución salina saturada (60 ml). Secar la fase orgánica sobre sulfato sódico, filtrar, y concentrar a presión reducida. Purificar el residuo resultante por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (500 mg, 0,58 mmol).
- 25 EM (m/z): 866,8, 867,8 (M+1), 864,8, 865,8 (M-1).

Preparación 13

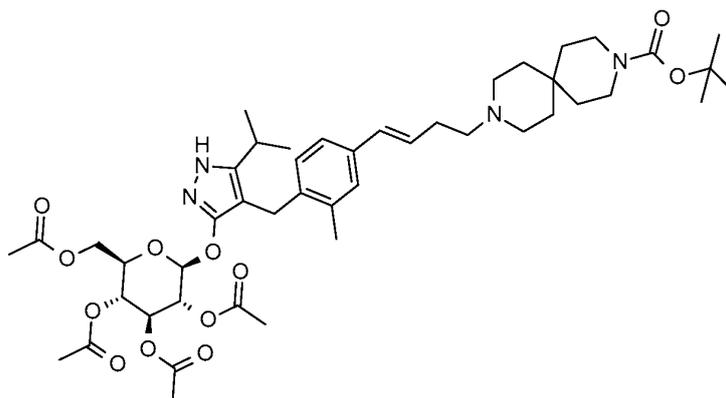
Síntesis de 2-{{(3E)-4-[3-metil-4-{{5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}{metil}fenil]but-3-en-1-il)-2,8-diazaespiro[4.5]decano-8-carboxilato de terc-butilo



- 5 El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento de la Preparación 12. EM (m/z): 852,8, 853,6 (M+1), 850,8, 851,6 (M-1).

Preparación 14

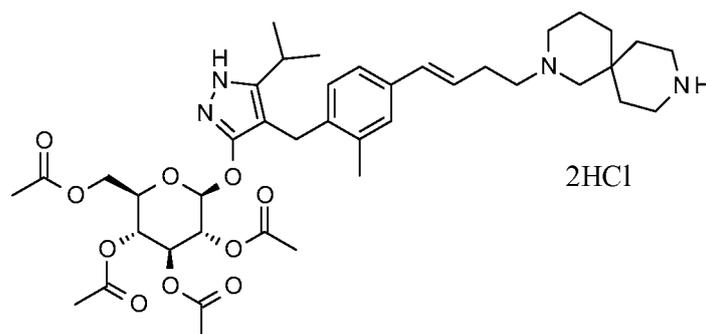
- 10 Síntesis de 9-{{(3E)-4-[3-metil-4-{{5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}{metil}fenil]but-3-en-1-il)-3,9-diazaespiro[5.5]undecano-3-carboxilato de terc-butilo



El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento de la Preparación 12. EM (m/z): 866,8, 867,6 (M+1), 864,8, 865,6 (M-1).

Preparación 15

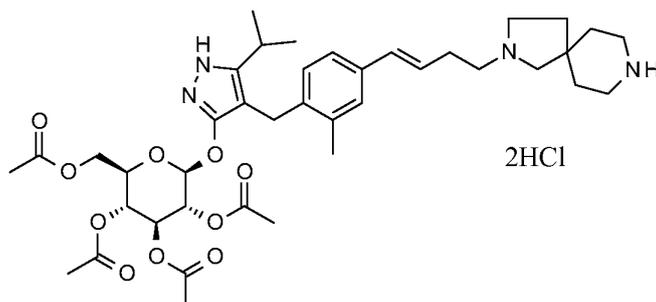
- 15 Síntesis de diclorhidrato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{{4-[(1E)-4-(2,9-diazaespiro[5.5]undec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



Esquema 2, etapa E: añadir cloruro de hidrógeno (solución 4,0 M en 1,4-dioxano, 1,5 ml, 5,8 mmol) a una solución de 2-[(3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il)metil]fenil]but-3-en-1-il]-2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (500 mg, 0,58 mmol) en diclorometano (20 ml). Después de 2 horas a temperatura ambiente, concentrar para retirar el disolvente a presión reducida para producir el compuesto del título en forma de un sólido (480 mg, 0,57 mmol).
EM (m/z): 767,4 (M+1).

Preparación 16

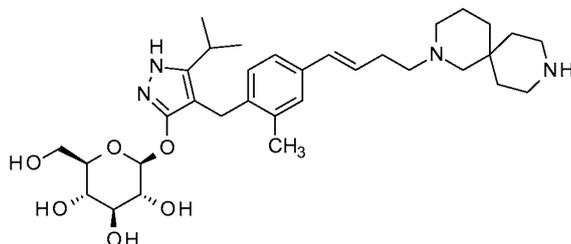
Síntesis de diclorhidrato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,8-diazaespiro[4.5]dec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento de la Preparación 15. EM (m/z): 752,8, 753,8 (M+1), 750,8 (M-1).

Primera síntesis alternativa del Ejemplo 1

Primera síntesis alternativa de beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,9-diazaespiro[5.5]undec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo

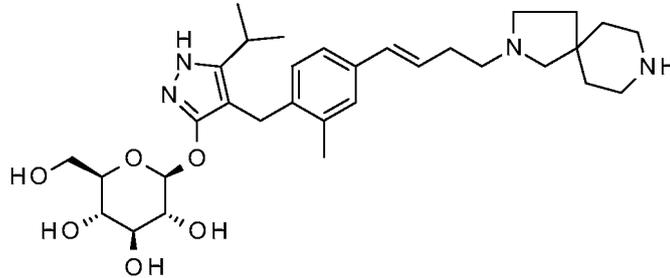


Esquema 2, etapa F: añadir metanol (5 ml), trietilamina (3 ml), y agua (3 ml) a diclorhidrato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,9-diazaespiro[5.5]undec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (480 mg, 0,24 mmol). Después de 18 horas (durante una noche) a temperatura ambiente, concentrar hasta sequedad a presión reducida. Purificar el residuo resultante por un procedimiento de HPLC preparativa: pH alto, 25 % de B durante 4 min, 25-40 % de B durante 4 min @ 85 ml/min usando una columna C18XBridge ODB de 30 x 75 mm, 5 um, disolvente A - H₂O con NH₄HCO₃ @ pH 10, disolvente B - MeCN para producir el compuesto del título en forma de un sólido (50 mg, 0,08 mmol).

EM (m/z): 598,8 (M+1), 596,8 (M-1). RMN ¹H (400,31 MHz, CD₃OD): δ 7,11 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 7,04 (dd, J = 1,3,8,0 Hz, 1H), 6,87 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,36 (d, J = 15,8 Hz, 1H), 6,16 (dt, J = 15,8, 6,3 Hz, 1H), 5,02 (m, 1H), 3,81 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 3,72 (d, J = 16,8 Hz, 1H), 3,68 (d, J = 16,8 Hz, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,37-3,29 (m, 4H), 2,79 (m, 1H), 2,72 (t, J = 5,8 Hz, 4H), 2,44-2,33 (m, 6H), 2,30 (s, 3H), 2,26 (s ancho, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,50 (m, 2H), 1,43 (m, 2H), 1,36 (m, 2H), 1,11 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 1,10 (d, J = 7,0 Hz, 3H).

Ejemplo 2

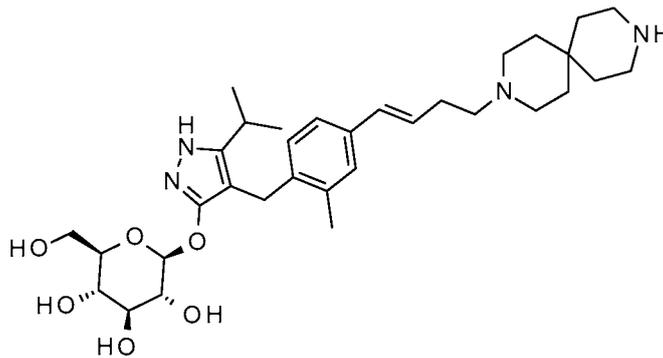
Síntesis de **beta-D-glucopiranosido** de **4-{4-[(1E)-4-(2,8-diazaespiro[4.5]dec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo**



- 5 El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento de la primera síntesis alternativa del Ejemplo 1. EM (m/z): 584,7 (M+1), 582,8 (M-1).

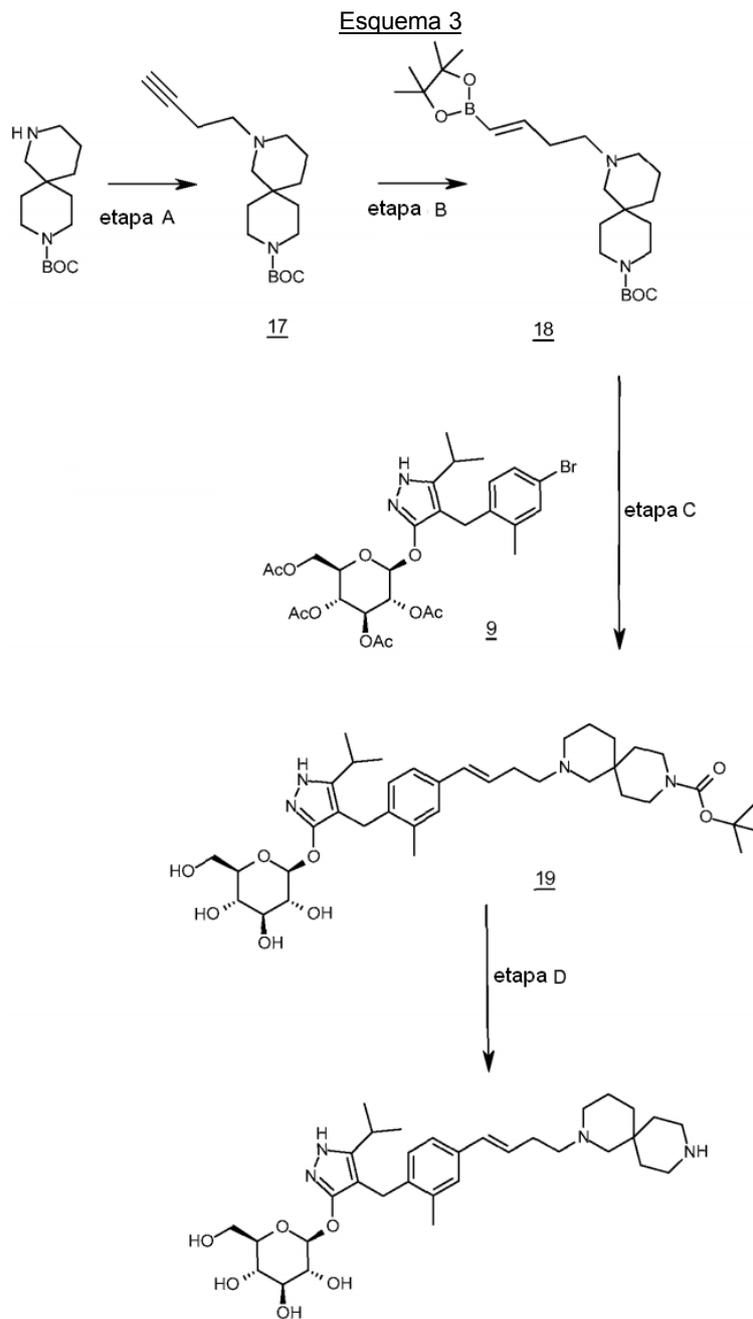
Ejemplo 3

Síntesis de **beta-D-glucopiranosido** de **4-{4-[(1E)-4-(3,9-diazaespiro[5.5]undec-3-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo**



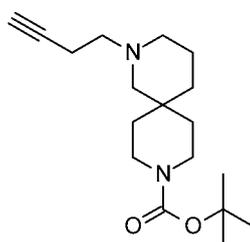
- 10 El compuesto del título se prepara básicamente mediante tratamiento en primer lugar del compuesto de la Preparación 14 con HCl como se discute en la Preparación 15 y a continuación tratamiento de la sal de clorhidrato resultante con trietilamina como se discute en la primera síntesis alternativa del Ejemplo 1. EM (m/z): 598,8, 599,8 (M+1), 596,8, 597,8 (M-1).

15



Preparación 17

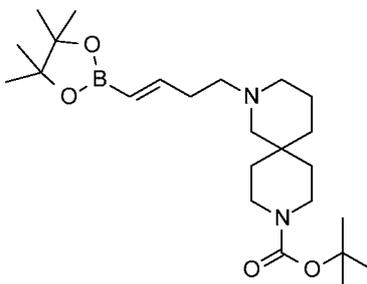
- 5 Síntesis de 4-but-3-inil-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo



Esquema 3, etapa A: se añade carbonato de cesio (46,66 g, 143,21 mmol) a una suspensión de clorhidrato de 4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (16,66 g, 57,28 mmol) en acetonitrilo (167 ml). La mezcla se agita durante 10 minutos a temperatura ambiente y a continuación se añade 4-bromobutino (6,45 ml, 68,74 mmol). La reacción se calienta a reflujo y se agita durante 18 horas. La mezcla se enfría y se concentra a presión reducida. El residuo se reparte entre agua (200 ml) y acetato de etilo (150 ml). Las fases se separan y la fase acuosa se extrae con acetato de etilo (100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavan con agua (200 ml), y a continuación solución salina saturada (150 ml), se secan sobre $MgSO_4$, se filtran, y se concentran a presión reducida para dar el compuesto del título (17,2 g, 98 % de rendimiento). RMN^1H (300,11 MHz, $CDCl_3$): δ 3,43-3,31 (m, 4H), 2,53-2,48 (m, 2H), 2,37-2,29 (m, 4H), 2,20 (s, 2H), 1,94 (t, $J = 2,6$ Hz, 1H), 1,44 (s, 17H).

10 Preparación 18

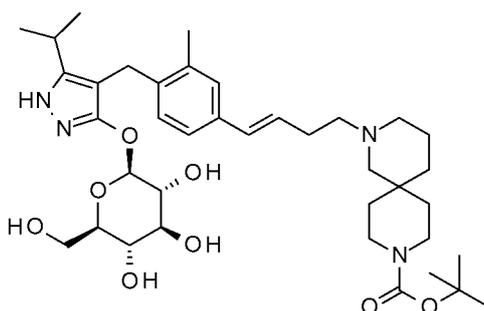
Síntesis de 4-[(E)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)but-3-enil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo



Esquema 3, etapa B: se añaden trietilamina (5,62 mmol; 0,783 ml), 4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (8,56 ml, 59,0 mmol) y cloruro de circonoceno (1,45 g, 5,62 mmol) a 4-but-3-enil-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (17,21 g, 56,16 mmol). La mezcla resultante se calienta a 65 °C durante 3,5 horas. La mezcla se enfría y se disuelve en diclorometano (150 ml). La solución resultante se pasa a través de un lecho de ~4 cm de espesor de gel de sílice, eluyendo con diclorometano (2 x 200 ml). El filtrado se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título (21,2 g, 87 % de rendimiento). RMN^1H (300,11 MHz, $CDCl_3$): δ 6,65-6,55 (m, 1H), 5,49-5,43 (m, 1H), 3,42-3,29 (m, 4H), 2,40-2,27 (m, 6H), 2,25-2,08 (m, 2H), 1,70 - 1,13 (m, 29H).

Preparación 19

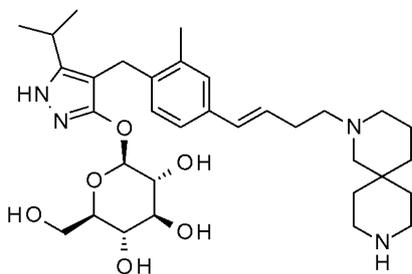
Síntesis de 2-[(3E)-4-[3-metil-4-((5-(propan-2-il)-3-beta-D-glucopiranosil)oxi)-1H-pirazol-4-il(metil)fenil]but-3-en-1-il]-2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo



Esquema 3, etapa C: una solución de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-(4-bromo-2-metilbencil)-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (20 g, 31,3 mmol), 4-[(E)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)but-3-enil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (16,3 g, 37,5 mmol) y carbonato potásico (12,97 g, 93,82 mmol) en tetrahidrofurano (200 ml) y agua (40 ml) se desgasifica durante 15 min por burbujeo de nitrógeno gaseoso a través de la misma. Se añaden $Pd(OAc)_2$ (140 mg, 625 μ mol) y 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-tri-*i*-propil-1,1'-bifenilo (0,596 g, 1,25 mmol) y la reacción se calienta a reflujo durante 16 h. La solución se enfría a temperatura ambiente y se añade metanol (200 ml). Después de 30 minutos el disolvente se retira a presión reducida. La mezcla se reparte entre acetato de etilo (500 ml) y solución salina saturada (500 ml) añadiendo $MgSO_4$ acuoso (1 M; 500 ml) para ayudar en la separación de fase. Las fases se separan y la fase orgánica se seca sobre $MgSO_4$ y se filtra a través de un lecho de 10 cm de gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo (~1,5 l). El filtrado se descarta y el lecho de sílice se lava abundantemente con un 5 % de MeOH en THF (2 l). El filtrado metanólico se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título (20,1 g, 92 %). EM (m/z): 699 (M+1).

Segunda síntesis alternativa del Ejemplo 1

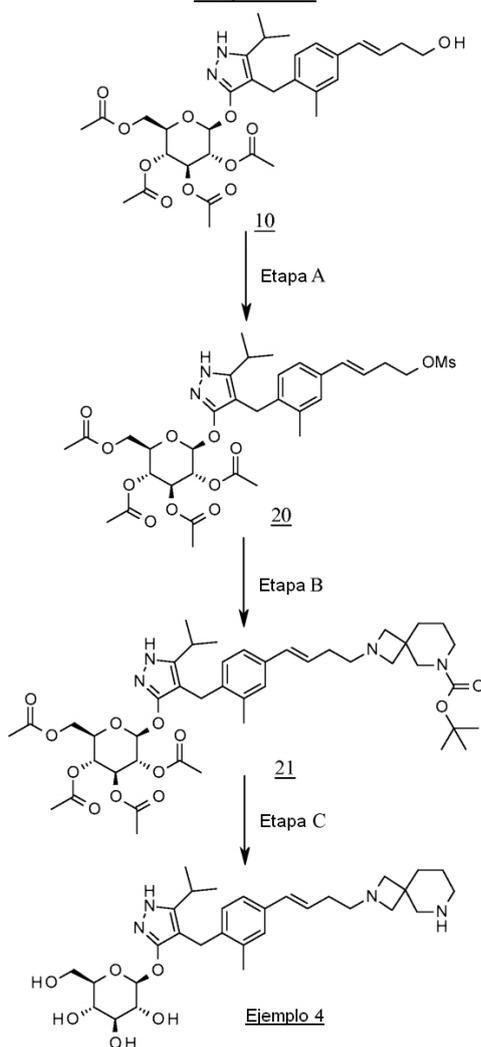
Segunda síntesis alternativa de beta-D-glucopiranosido 4-{4-[(1E)-4-(2,9-diazaespiro[5.5]undec-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



- 5 Esquema 3, etapa D: se añade ácido trifluoroacético (32,2 ml; 0,426 mol) a una solución de 2-[(3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il]metil]fenil]but-3-en-1-il]-2,9-diazaespiro[5.5]undecano-9-carboxilato de terc-butilo (14,87 g; 21,28 mmol) en diclorometano (149 ml) enfriada en agua helada. La solución se deja calentar a temperatura ambiente. Después de 30 minutos, la mezcla se añade lentamente a amoníaco en MeOH (2 M; 300 ml), aplicando refrigeración según sea necesario para mantener una temperatura constante. La solución se agita a temperatura ambiente durante 15 min. La mezcla se concentra a presión reducida y el residuo se purifica usando resina SCX-2. El filtrado básico se concentra a presión reducida y el residuo se tritura/somete a ultrasonidos en acetato de etilo, se filtra y se seca. El sólido resultante se disuelve en MeOH (200 ml) y se concentra al vacío. Esto se repite varias veces para dar el compuesto del título (12,22 g, 96 % de rendimiento). EM (m/z): 599 (M+1). $[\alpha]_D^{20} = -12^\circ$ (C = 0,2, MeOH).

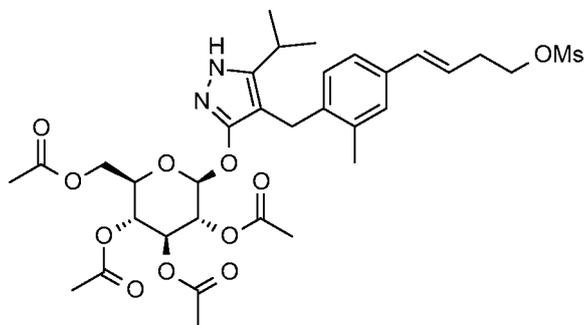
15

Esquema 4



Preparación 20

Síntesis de metanosulfonato de (3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}metil)fenil]but-3-en-1-ilo de



5

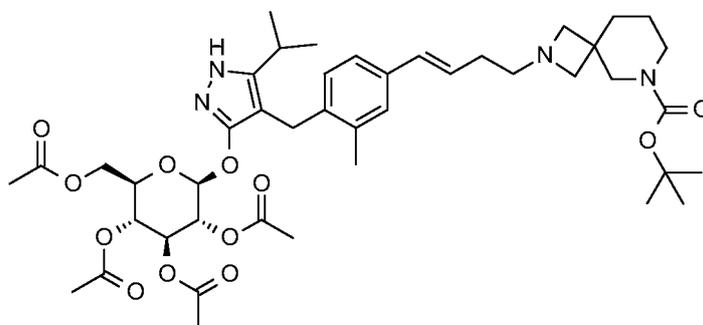
Esquema 4, etapa A. Añadir cloruro de metanosulfonilo (0,54 ml, 7 mmol) a una solución de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-hidroxibut-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (3,7, 5,87 mmol) en diclorometano (15 ml) y trietilamina (4 ml, 29 mmol) a 0 °C. Después de calentar reflujo a temperatura ambiente durante 30 min, concentrar para retirar el disolvente a presión reducida. Purificar el residuo por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (2,9 g, 4,1 mmol). EM (m/z): 708,5 (M+1), 706,5 (M-1).

10

Preparación 21

Síntesis de 2-((3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}metil)fenil]but-3-en-1-ilo)-2,6-diazaespiro[3.5]nonano-6-carboxilato de terc-butilo de

15

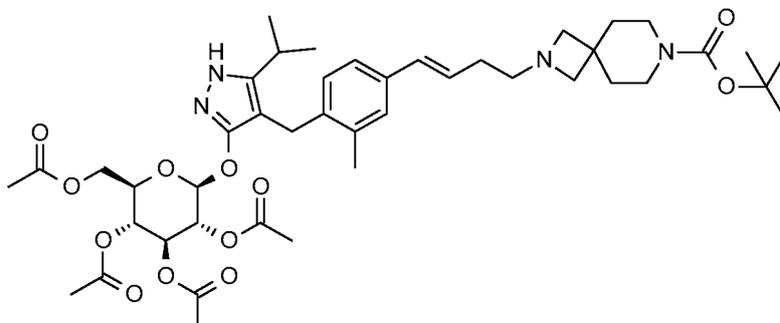


20

Esquema 4, etapa B. Añadir diisopropiletilamina (0,2 ml, 1,1 mmol) a una solución de metanosulfonato de (3E)-4-[3-metil-4-({5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il}metil)fenil]but-3-en-1-ilo (200 mg, 0,28 mmol) y 2,6-diazaespiro[3.5]nonano-6-carboxilato de terc-butilo (77 mg, 0,34 mmol) en acetonitrilo (3 ml). Calentar la mezcla a 80 °C durante una noche. Concentrar a presión reducida y purificar el residuo por cromatografía ultrarrápida para producir el compuesto del título (127 mg, 0,15 mmol). EM (m/z): 838,8, 839,6 (M+1), 836,8, 837,6 (M-1).

Preparación 22

Síntesis de
 2-((3E)-4-[3-metil-4-((5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il)metil)fenil]but-3-en-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-7-carboxilato de terc-butilo

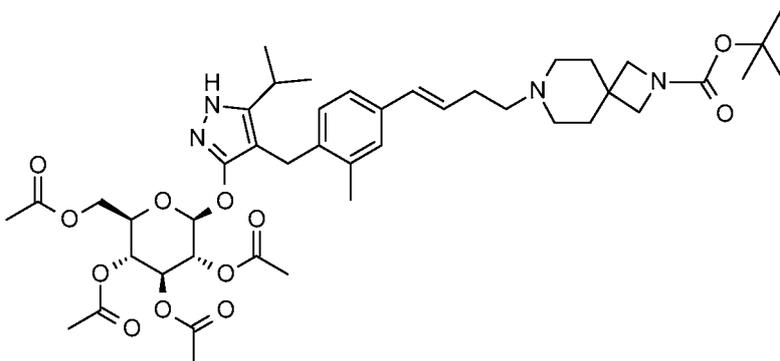


5

El compuesto del título se prepara básicamente como el procedimiento de la Preparación 21. EM (m/z): 838,8, 839,6 (M+1), 836,8, 837,6 (M-1).

Preparación 23

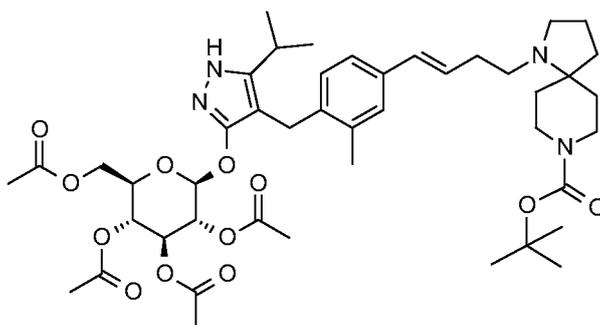
Síntesis de
 10 7-((3E)-4-[3-metil-4-((5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il)metil)fenil]but-3-en-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonano-2-carboxilato de terc-butilo



El compuesto del título se prepara básicamente como el procedimiento de la Preparación 21. EM (m/z): 838,8, 839,6 (M+1), 836,8, 837,6 (M-1).

Preparación 24

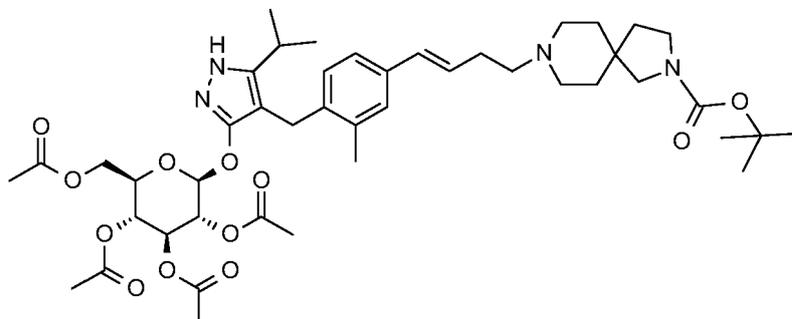
Síntesis de
 15 1-((3E)-4-[3-metil-4-((5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il)metil)fenil]but-3-en-1-il)-1,8-diazaespiro[4.5]decano-8-carboxilato de terc-butilo



20 El compuesto del título se prepara básicamente como el procedimiento de la Preparación 21. EM (m/z): 852,8, 853,6 (M+1), 850,8, 852,8 (M-1).

Preparación 25

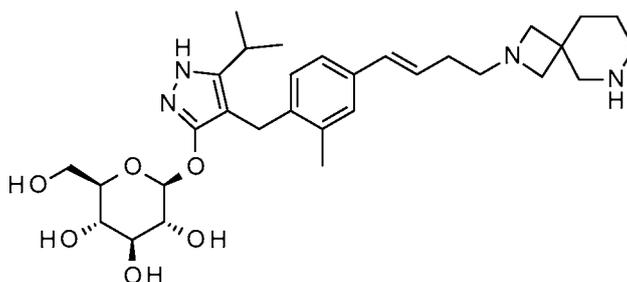
Síntesis de 8-((3E)-4-[3-metil-4-((5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il)metil)fenil]but-3-en-1-il)-2,8-diazaespiro[4.5]decano-2-carboxilato de terc-butilo



- 5 El compuesto del título se prepara básicamente como el procedimiento de la Preparación 21. EM (m/z): 852,8, 853,6 (M+1), 850,8, 851,6 (M-1).

Ejemplo 4

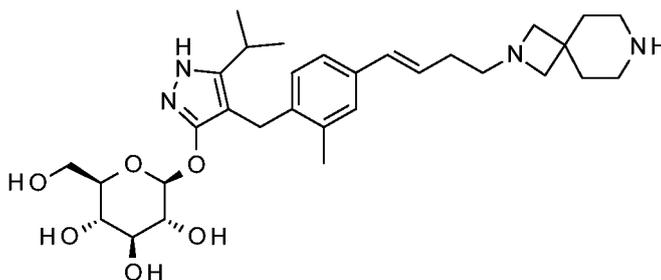
Síntesis de beta-D-glucopiranosido de 4-4-[(1E)-4-(2,6-diazaespiro[3.5]non-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil]-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



- 10 Esquema 4, etapa C. Añadir HCl/1,4-dioxano 4,0 M (1,5 ml, 1,5 mmol) a una solución de 2-((3E)-4-[3-metil-4-((5-(propan-2-il)-3-[(2,3,4,6-tetra-O-acetil-beta-D-glucopiranosil)oxi]-1H-pirazol-4-il)metil)fenil]but-3-en-1-il)-2,6-diazaespiro[3.5]nonano-6-carboxilato de terc-butilo en diclorometano (2 ml) y agitar a ta durante 4,0 h. Concentrar la mezcla a presión reducida hasta un sólido espumoso. Tratar el sólido con amoníaco 2,0 M en MeOH (2 ml) durante una noche. Después de 18 horas a temperatura ambiente, concentrar para retirar el disolvente a presión reducida. El residuo resultante se purifica por un procedimiento de HPLC preparativa: pH alto, 19 % de B durante 3 min, 19-34 % de B durante 5 min @ 85 ml/min usando una columna C18XBridge ODB de 30 x 75 mm, 5 um, disolvente A - H₂O con NH₄HCO₃ @ pH 10, disolvente B - MeCN para producir el compuesto del título en forma de un sólido (47 mg, 0,08 mmol). EM (m/z): 570,8, 571,8 (M+1), 568,7, 569,8 (M-1).

Ejemplo 5

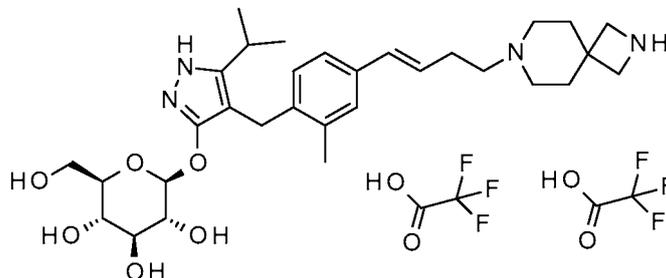
Síntesis de beta-D-glucopiranosido de 4-4-[(1E)-4-(2,7-diazaespiro[3.5]non-2-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil]-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo



- 25 El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento del Ejemplo 4. EM (m/z): 570,8, 571,8 (M+1), 568,7, 569,8 (M-1).

Ejemplo 6

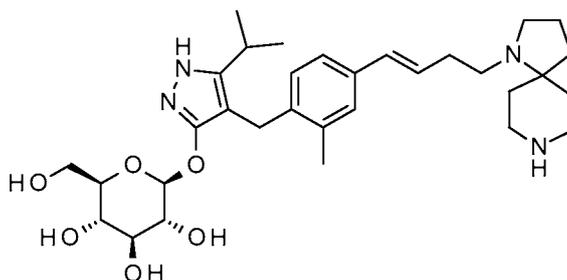
Síntesis de trifluoroacetato de beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,7-diazaespiro[3.5]non-7-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo (1:2)



- 5 El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento del Ejemplo 4 purificándose el compuesto final mediante un procedimiento de HPLC preparativa a pH bajo (pH bajo, 16 % de B durante 3 min, 16-33 % de B durante 5 min @ 85 ml/min usando una columna C18XBridge ODB de 30 x 75 mm, 5 um, disolvente A - H₂O con un 0,1 % de TFA, disolvente B - MeCN con un 0,1 % de TFA).
EM (m/z): 570,8, 571,8 (M+1), 568,7, 569,8 (M-1).

10 Ejemplo 7

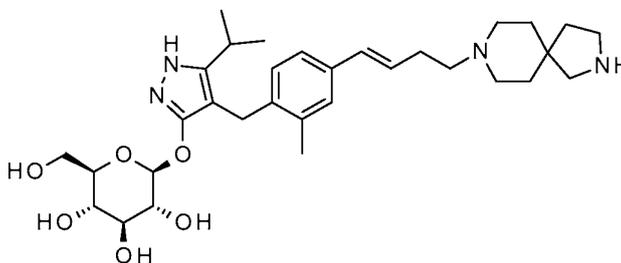
Síntesis de beta-d-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(1,8-diazaespiro[4.5]dec-1-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo de



- 15 El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento del Ejemplo 4. EM (m/z): 584,7, 585,8 (M+1), 582,8, 583,8 (M-1).

Ejemplo 8

Síntesis de beta-D-glucopiranosido de 4-{4-[(1E)-4-(2,8-diazaespiro[4.5]dec-8-il)but-1-en-1-il]-2-metilbencil}-5-(propan-2-il)-1H-pirazol-3-ilo de



- 20 El compuesto del título se prepara básicamente mediante el procedimiento del Ejemplo 4.
EM (m/z): 584,7, 585,8 (M+1), 582,8, 583,8 (M-1).

Ensayos de transportador de glucosa dependiente de sodio 1 (SGLT1) y SGLT2

- 25 Se adquiere el ADNc que codifica SGLT1 humano (*slc5a1*, NM_000343), SGLT2 humano (*slc5a2*, M_003041) y SGLT1 de ratón (*slc5a1*, M_019810.4) en Openbiosystems, Invitrogen y Openbiosystems, respectivamente. El ADNc se clona en pcDNA3,1+ para la expresión en mamífero y se transfecta de forma estable en células (CHO)-K1 de ovario de hámster chino usando procedimientos de transfección en mamífero convencionales. Se selecciona un subclón que expresa SGLT de cada línea celular de sobreexpresión en base a la resistencia a neomicina (Geneticina, Invitrogen) y

la actividad en el ensayo de captación de ^{14}C - α -metil-D-glucopiranosido (^{14}C -AMG) (véase posteriormente). Las células estables que expresan SGLT se mantienen usando técnicas de cultivo celular convencionales.

La actividad de SGLT se mide como la captación de ^{14}C -AMG dependiente de sodio en las líneas celulares anteriores y se describe como sigue a continuación. Se siembran cien μl de medio de cultivo que contiene 30.000 células en cada pocillo de una placa de 96 pocillos de poli-D-lisina BioCoat (Becton Dickson) y se cultivan a 37°C durante una noche. El medio de cultivo se aspira y las células se lavan dos veces con $200\ \mu\text{l}$ de Tampón de Reacción (NaCl 140 mM, KCl 2 mM, CaCl_2 1 mM, MgCl_2 , y ácido N-2-hidroetilpiperazina-N'-2-etanosulfónico 14 mM (Hepes), pH 7,5). El exceso de tampón se vacía en toallas de papel. Se añaden treinta y cinco μl de Tampón de Reacción a cada pocillo. Se dispensan cinco μl de un 10 % de dimetilsulfóxido (DMSO) en Tampón de Reacción que contiene concentraciones variables el compuesto de ensayo o ningún compuesto como control, en cada pocillo. La reacción se inicia por adición de $10\ \mu\text{l}$ de ^{14}C -AMG en Tampón de Reacción para preparar una concentración final de $4\ \mu\text{M}$. La placa se incuba a 37°C durante 125 minutos. La reacción se termina retirando por aspiración el Tampón de Reacción y a continuación se lava tres veces con $200\ \mu\text{l}$ de Tampón de Reacción enfriado en hielo. Se aplica aspiración manual para asegurar la retirada completa del Tampón de Reacción. Se añaden diez μl de NaOH 0,1 N a cada pocillo y a continuación se añaden $100\ \mu\text{l}$ de cóctel de centelleo Supermix (PerkinElmer). Después de mezclar, se cuenta la señal de centelleo en la placa en un MicroBeta (PerkinElmer). Se ajusta una curva de respuesta a 10 dosis a un modelo empírico de cuatro parámetros usando ActivityBase (ID Business Solución) para determinar la concentración de inhibidor en la inhibición semimáxima (CI_{50}). Los compuestos de los Ejemplos 1-8 del presente documento se someten a ensayo básicamente como se ha descrito anteriormente y exhiben un valor de CI_{50} para SGLT1 de menos de aproximadamente $500\ \text{nM}$.

Tabla 1: potencia *in vitro* del Ejemplo 1 frente a SGLT1 y SGLT2

Compuesto de ensayo	CI_{50} SGLT1 Humano, nM	CI_{50} SGLT2 Humano, nM	CI_{50} SGLT1 de ratón, nM
Ejemplo 1	26 ± 20 (n = 10)	26 ± 1200 (n = 10)	10 ± 2 (n = 9)

Más específicamente, los datos de la tabla 1 demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 inhibe SGLT1 humano y de ratón *in vitro*, y es más potente en SGLT1 humano y de ratón que en SGLT2 humano *in vitro*.

Efectos de disminución de glucosa en ensayo oral de tolerancia a glucosa (OGTT)

El compuesto de ensayo se formula por adición de un vehículo de un 1 % de hidroxietilcelulosa, Tween® 80 al 0,25 % con antiespumante al 0,05 % al compuesto de ensayo pesado previamente para preparar una solución de $1\ \text{mg/ml}$. La mezcla se somete a ultrasonidos durante aproximadamente 30 segundos. La solución resultante se usa como solución de trabajo a partir de la cual se preparan las soluciones de dosis de concentración inferior por dilución con el vehículo.

Se somete a ayuno a ratones C57B1/6 alojados individualmente durante una noche retirando el acceso al alimento la última noche antes del día del ensayo. A la mañana siguiente, los ratones se pesan y se toma una muestra de sangre en ayunas individual mediante un corte en la cola para medir la glucosa con un glucómetro (Roche AccuChek). Los grupos de estudio (n = 5) se determinan en base a la glucosa en sangre en ayunas y comprenden preferentemente animales en el intervalo de $80\text{-}100\ \text{mg/dl}$ de glucosa.

Después de la agrupación, se alimenta oralmente por sonda al primer ratón con $10\ \text{ml/kg}$ de la preparación del compuesto de ensayo y se inicia un temporizador. Cada animal posterior se dosifica con un minuto y medio de separación. Tres horas después de que se inicie el primer tratamiento de compuesto, se toma una muestra de sangre de línea base para medir la glucosa (del primer animal, mediante un corte en la cola). A continuación, se da inmediatamente al animal una dosis de dextrosa al 50 % (Hospira) a $3\ \text{g/kg}$. Se toman muestras de sangre para glucosa, exactamente con un minuto y medio de separación, de la vena de la cola de modo que la sangre se recoge en cada animal 20, 40, 60 y 120 minutos después de la dosis de dextrosa.

Tabla 2. Efectos de disminución de glucosa en OGTT

Media de los resultados del ensayo de tolerancia oral a glucosa \pm SE					
ANOVA de 2 vías/Bonferroni's *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 comparado con el vehículo					
	Vehículo	Ejemplo 1 0,3 mg/kg	Ejemplo 1 1 mg/kg	Ejemplo 1 3 mg/kg	Ejemplo 1 10 mg/kg
Glucosa (mg/dl)					
Minuto 0	$84 \pm 8,4$	$78 \pm 4,2$	$76 \pm 3,3$	$72 \pm 2,6$	$78 \pm 5,4$
Minuto 20	$268 \pm 49,3$	$185 \pm 13,7^{***}$	$147 \pm 8,3^{***}$	$133 \pm 7,1^{***}$	$124 \pm 1,2^{***}$
Minuto 40	$192 \pm 26,8$	$197 \pm 14,7$	$171 \pm 11,1$	$150 \pm 7,5$	$137 \pm 5,4^{**}$
Minuto 60	$139 \pm 6,2$	$164 \pm 6,3$	$162 \pm 5,8$	$155 \pm 7,2$	$138 \pm 6,1$
Minuto 120	$105 \pm 5,1$	$121 \pm 11,8$	$109 \pm 7,3$	115 ± 10	$114 \pm 4,3$

(continuación)

Media de los resultados del ensayo de tolerancia oral a glucosa \pm SE					
ANOVA de 1 vía/ Dunnett's *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 comparado con el vehículo					
AUC ajustada de línea base	6408 \pm 1500	5400 \pm 519	4158 \pm 374	3606 \pm 421*	2693 \pm 309**
Glucosa (mg/dl)					
Cmax de glucosa	268 \pm 49,3	199 \pm 14,1	174 \pm 9,38**	161 \pm 5,00**	141 \pm 5,67**
Tiempo (minutos)					
Tmax de glucosa	20 \pm 0	32 \pm 5	48 \pm 5	64 \pm 13**	44 \pm 7

Como se muestra en la tabla 2, el compuesto del ejemplo 1 suministra una disminución dependiente de dosis en la excursión de glucosa seguida de un bolo oral de dextrosa al 50 % (Hospira®) en los ratones C57B1/6 con glucemia normal. El Ejemplo 1 también demuestra una disminución dependiente de dosis en el área bajo la curva (AUC) de glucosa ajustada de la línea base durante el OGTT. Además, el ejemplo 1 disminuye con dependencia de la dosis la concentración máxima media de glucosa en plasma (Cmax) durante el OGTT mientras que aumenta el tiempo medio que tarda la glucosa en alcanzar la concentración máxima (Tmax).

Valores de glucosa en un ensayo de tolerancia a alimento mixto en ratas macho con diabetes inducida por estreptozotocina

Las ratas a las que se ha administrado estreptozotocina (STZ) desarrollan diabetes mellitus. Se cree que los agentes que modulan los niveles de glucosa en estos animales son útiles en el tratamiento de diabetes en seres humanos.

El compuesto de ensayo se formula por adición de un vehículo de un 1 % de hidroxietilcelulosa, Tween® 80 al 0,25 % con antiespumante al 0,05 % al compuesto de ensayo pesado previamente para preparar una solución de 2,5 mg/ml. La mezcla se somete a ultrasonidos durante aproximadamente 30 segundos. La solución resultante se usa como solución de trabajo, a partir de la cual se preparan las soluciones de dosis de concentración inferior por dilución con el vehículo. Se formula STZ, 45 mg/kg, por disolución en tampón Citrato 0,1 M en alícuotas de 3 ml y se almacena en oscuridad sobre hielo, cuando no se va a administrar. Se usa un alimento mixto de alto contenido en grasas (Dieta de Roedor F3282 de Alto Contenido en Grasa Bio-Serv®) que comprende Calorías de Grasas (60 %), Calorías de Carbohidratos (26 %) y Calorías de Proteínas (15 %). Se permite que ratas Sprague Dawley alojadas individualmente se aclimaten durante un período de 3 a 7 días.

En un esfuerzo por asegurar que los animales no se han alimentado recientemente, se administra STZ por la noche, aproximadamente seis horas en el ciclo de luz (luz encendida a las 6 AM, luz apagada a las 6 PM). Los animales se anestesian con isoflurano y se suministra STZ a través de inyección en la vena de la cola. Una vez están inconscientes los animales, se devuelven al alojamiento y se permite que se recuperen durante 7 días.

En los dos días inmediatamente anteriores al ensayo de tolerancia a alimento (MTT) se da a todas las ratas una pequeña cantidad (2-4 g) de la dieta F3282, de modo que se acostumbren a esta antes de recibirla durante el experimento. En la noche anterior al experimento, las ratas se trasladan a jaulas limpias y se retira su alimento. A la mañana siguiente, los animales se pesan y se toma una muestra de sangre mediante corte en la cola para la medida de glucosa (glucómetros Abbott AlphaTrak: código 29). Los animales se agrupan n = 6 en base al peso corporal y la glucosa en ayunas. Treinta minutos después de que el compuesto de ensayo se administre por vía oral, se recogen dos medidas de glucosa. A continuación se da un microgránulo de cinco gramos de dieta 3282 de Bio-Serv®. Después de permanecer 20 minutos, la comida se retira y se pesa. Se toman muestras de sangre en 20, 40, 60 y 120 minutos para la medida de glucosa.

Tabla 3. Valores de glucosa en un MTT mixto en ratas macho con diabetes inducida por STZ

		Valores de glucosa (mg/dl) Grupos n = 5-6, Media \pm SE					
Tratamiento	Dosis	0 min.	20 min.	40 min.	60 min.	120 min.	AUC ajustada de línea base
Vehículo		113,6 \pm 12,6	297,2 \pm 26,6	427,6 \pm 41	452,2 \pm 37,3	544,7 \pm 50,1	36429 \pm 3155
Ejemplo 1	10 mg/kg	139 \pm 16,1	221,2 \pm 26,3	268,7 \pm 29*	330 \pm 36,7	490,8 \pm 39,2	22432 \pm 2234*
Ejemplo 1	30 mg/kg	137,4 \pm 26,9	195,4 \pm 44,8	232 \pm 52,2**	263,9 \pm 62,2*	355,3 \pm 73,2*	14649 \pm 3673**

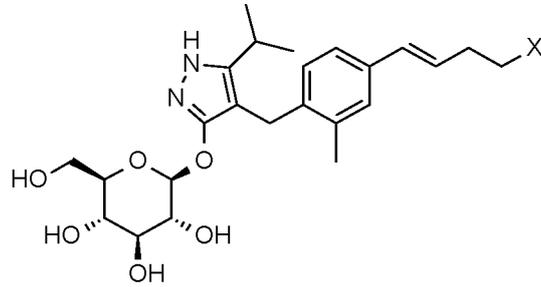
(continuación)

		Valores de glucosa (mg/dl) Grupos n = 5-6, Media \pm SE					
Tratamiento	Dosis	0 min.	20 min.	40 min.	60 min.	120 min.	AUC ajustada de línea base
Acarbosa	60 mg/kg	124 \pm 16,9	181 \pm 22,8	301,3 \pm 51,2	371,5 \pm 63,9	433,7 \pm 83	23877 \pm 4649*
ANOVA de 2 vías/ Bonferroni's *p < 0,05, **p < 0,01							

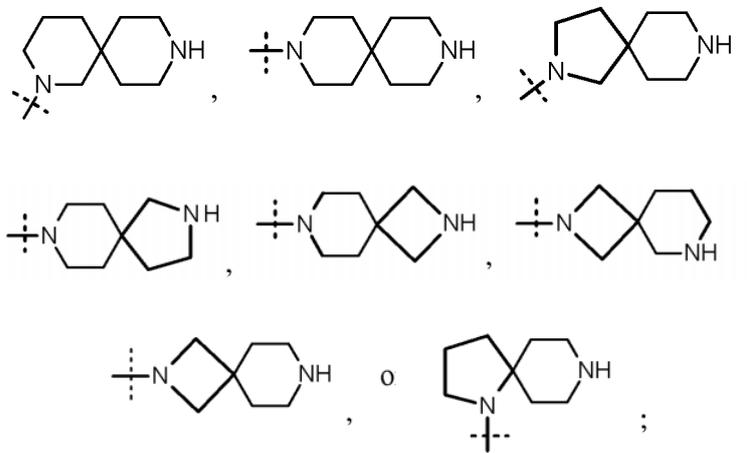
5 Como se muestra en la tabla 3 anterior, el compuesto del ejemplo 1 disminuye considerablemente y dependientemente de la dosis la glucosa en el MTT en comparación con los controles de vehículo. La acarbosa no disminuyó considerablemente la glucosa en comparación con los controles en ningún punto temporal. Además, existe una disminución dependiente de dosis en la AUC ajustada de línea base de glucosa asociada al tratamiento con el Ejemplo 1. La acarbosa disminuye considerablemente la AUC de glucosa hasta niveles similares a los del Ejemplo 1 a 10 mg/kg. La tabla 3 demuestra que el compuesto del ejemplo 1 modula los niveles de glucosa en ratas macho.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



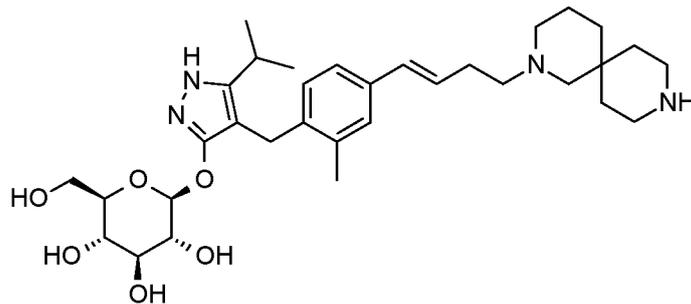
en la que X representa lo siguiente:



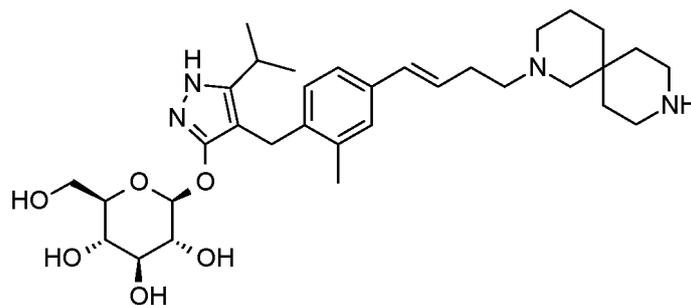
5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto o la sal de acuerdo con la reivindicación 1 que es:



10 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 que es:



4. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 para su uso en terapia.
5. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 para su uso en el tratamiento de diabetes.
- 5 6. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de acuerdo con la reivindicación 5 en el tratamiento de diabetes de tipo 1.
7. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso de acuerdo con la reivindicación 5 en el tratamiento de diabetes de tipo 2.
- 10 8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en combinación con uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.
9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende además otro u otros agentes terapéuticos.