

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 646 125**

51 Int. Cl.:

C07H 19/04 (2006.01)

A61K 31/7042 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2014 PCT/US2014/062548**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015 WO15065956**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2014 E 14793753 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 3063162**

54 Título: **Derivados de indol-urea sustituidos con glucopiranosilo y su uso como inhibidores de SGLT**

30 Prioridad:

01.11.2013 US 201361898494 P

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

12.12.2017

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

FIELDS, TODD

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 646 125 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

Derivados de indol-urea sustituidos con glucopiranosilo y su uso como inhibidores de SGLT

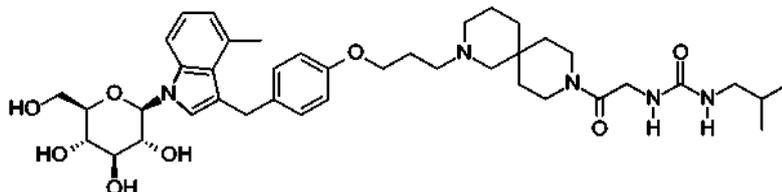
La presente invención se refiere a compuestos de urea novedosos, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, a los compuestos para su uso en el tratamiento de trastornos fisiológicos, y a intermediarios y procedimientos útiles en la síntesis de los compuestos.

La presente invención se encuentra en el campo del tratamiento de diabetes y otras enfermedades y trastornos asociados con la hiperglucemia. La diabetes es un grupo de enfermedades que está caracterizado por niveles altos de glucosa en sangre. Esta afecta a aproximadamente 25 millones de personas en los Estados Unidos y también es la 7ª causa principal de muerte en los Estados Unidos, según la National Diabetes Fact Sheet de 2011 (Departamento de Salud y Servicios Sociales de los Estados Unidos, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades). Los cotransportadores de glucosa acoplada a sodio (SGLT por las siglas del inglés *sodium-coupled glucose cotransporters*) son uno de los transportadores que se sabe que son responsables de la absorción de hidratos de carbono, tales como glucosa. Más específicamente, el SGLT1 es responsable del transporte de glucosa a través de la membrana del borde en cepillo del intestino delgado. La inhibición de SGLT1 puede dar como resultado una absorción reducida de glucosa en el intestino delgado, proporcionando de este modo un enfoque útil para el tratamiento de la diabetes.

La publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2008/0139484 A1 desvela compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno sustituido con 1-(P-D-glucopiranosil)-3 que tienen actividad inhibitoria de SGLT1 y/o SGLT2 que se desvelan adicionalmente como útiles para la prevención o el tratamiento de una enfermedad asociada con hiperglucemia, tal como diabetes. Además, la patente estadounidense n.º 7.851.617 desvela derivados de indol que son inhibidores de SGLT y se desvelan además como útiles para el tratamiento o la prevención de la diabetes y afecciones relacionadas.

Existe una necesidad de fármacos alternativos y de un tratamiento para la diabetes. La presente invención proporciona determinados inhibidores novedosos de SGLT1 que pueden ser adecuados para el tratamiento de la diabetes.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I:



Fórmula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la terapia, en particular, en el tratamiento de la diabetes. Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la diabetes de tipo 1. Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la diabetes de tipo 2. La invención proporciona adicionalmente un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la tolerancia alterada a la glucosa (TAG), glucosa en ayunas alterada (GAA), o síndrome metabólico.

La invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más transportadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. La presente invención también abarca intermediarios y procedimientos novedosos para la síntesis del compuesto de Fórmula I.

Tal como se usa en el presente documento, las expresiones "que trata" o "tratar" incluyen la restricción, la ralentización, la detención o la inversión de la evolución o la gravedad de un síntoma o trastorno existente.

Tal como se usa en el presente documento, el término "paciente" se refiere a un mamífero, tal como un ratón, una cobaya, una rata, un perro o un ser humano. Se entiende que el paciente preferido es un ser humano.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis de compuestos de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos que, tras la administración de una dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente sometido a diagnóstico o tratamiento.

Una cantidad eficaz puede estar determinada fácilmente por el especialista en diagnóstico, como experto en la materia, mediante el uso de técnicas conocidas y la observación de los resultados obtenidos en circunstancias

análogas. En la determinación de la cantidad eficaz en un paciente, el especialista en diagnóstico tiene en consideración varios factores, incluyendo, pero sin limitación: la especie de mamífero; su tamaño, edad y estado de salud general; la enfermedad o trastornos específicos afectados; el grado de o la afectación o la gravedad de la enfermedad o 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 dosis seleccionado; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes.

Los compuestos de Fórmula I son generalmente eficaces sobre un amplio intervalo de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente se encuentran comprendidas en el 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, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores sin que causen ningún efecto secundario perjudicial y, por lo tanto, el intervalo de dosificación anterior no pretende limitar el ámbito de la invención de ninguna manera.

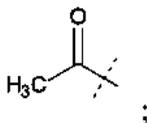
Los compuestos de la invención se formulan preferentemente como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier vía que hace biodisponible el compuesto. Lo más preferentemente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y procedimientos para la preparación de las mismas son bien conocidos en la técnica. (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21^a 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 una administración simultánea y secuencial. Además, la administración simultánea de la combinación puede ser como una única dosis de combinación o dosis separadas de cada agente terapéutico. Los ejemplos de agentes antidiabéticos incluyen metformina; un inhibidor de DPPIV, tal como sitagliptina o linagliptina; una sulfonilurea, tal como glimepirida; un tiazolidindiona, tal como pioglitazona; una insulina basa, tal como glargina; una insulina que actúa rápidamente, 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 Fórmula I se preparan tal como se ilustran en las preparaciones, ejemplos y esquemas más adelante. Los reactivos y materiales de partida están fácilmente disponibles para un experto habitual en la materia. Todos los sustituyentes, a menos que se especifique lo contrario, son tal como se han definido previamente. Se entiende que estos esquemas, preparaciones y ejemplos no pretenden limitantes para el ámbito de la invención de ninguna manera.

Los ejemplos de resoluciones incluyen técnicas de cristalización selectivas o cromatografía quiral. (Véanse, por ejemplo, J. Jacques, y col., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, y E.L. Eliel y S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Debe quedar claro adicionalmente a un experto habitual en la materia que la separación y el aislamiento, mediante cromatografía, cromatografía quiral o cristalización selectiva, de diastereómeros o isómeros geométricos individuales de Fórmula I o diastereómeros o isómeros geométricos individuales de intermediarios que conducen a Fórmula I, pueden producirse en cualquier punto conveniente en la síntesis.

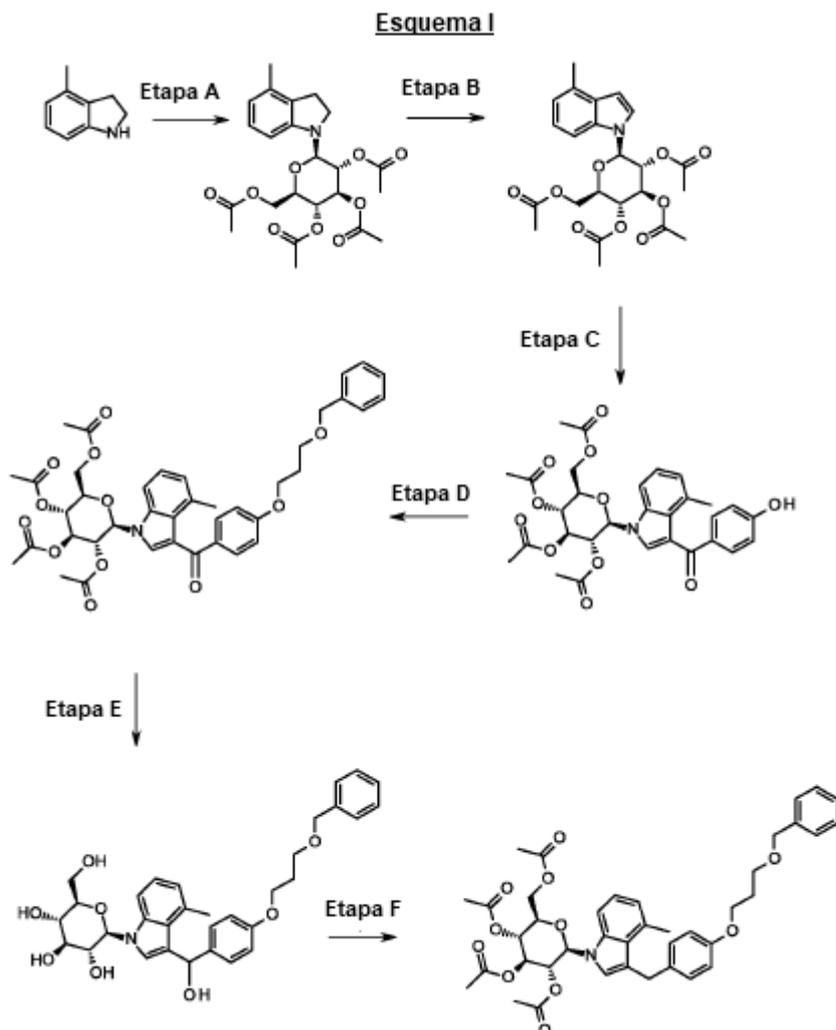
Tal como se usa en el presente documento, "δ" se refiere a partes por millón de campo bajo de tetrametilsilano; "min" se refiere a minuto o minutos; "h" se refiere a horas; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "MeOH" se refiere a metanol o alcohol metílico; "EtOH" se refiere a etanol o alcohol etílico; "TFA" se refiere a ácido trifluoroacético; "DPPA" se refiere a difenilfosforil azida; "HATU" se refiere a hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'tetrametiluronio; "CDI" se refiere a 1,1'-carbonildiimidazol; "DDQ" se refiere a 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona; "Xphos" se refiere a 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo; "MTBE" se refiere a éter metil terc-butílico; "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; "Ac" se refiere a un sustituyente de acetilo de la siguiente estructura:



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

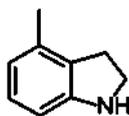
Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para la preparación de las mismas son bien conocidas en la técnica. Véanse, por ejemplo, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs", International Journal of Pharmaceutics, 33: 201-217 (1986); Bastin y col., "Salt Selection and Optimization 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. Un experto en la materia de la síntesis apreciará que los compuestos de Fórmula I como aminas son bases orgánicas y que se convierten en y se aíslan fácilmente como sales farmacéuticamente aceptables usando técnicas y condiciones bien conocidas por

un experto en la materia.



Preparación 1

4-metilindolina.



5

Procedimiento A

Se cargan 4-metil-1H-indol (500 g; 1,0 equiv; 3,811 mol) y ácido acético (2.000 ml) en un matraz de 20 l a temperatura ambiente. Se enfría la solución hasta 0 °C (temperatura interna) y después se añade cianoborohidruro de sodio (359,2 g; 1,5 equiv; 5,71 mol) en 5 partes iguales, sin dejar que la mezcla se caliente por encima de 10 °C. Cuando se completa la adición, se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas. Se enfría la mezcla de reacción hasta 0 °C y se añade hielo (5 kg). Se añade una solución preenfriada (5 °C) de hidróxido de sodio (4M) muy lentamente para lograr un pH en la mezcla de reacción de 14. Se extrae la mezcla de reacción con acetato de etilo (2 x 10 l). Se combinan las capas orgánicas y se lavan con agua (1 x 10 l) y salmuera (1 x 10 l). Se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra, y se concentra a presión reducida para obtener el compuesto del título (460 g, 90 % de rendimiento): espectro de masas (m/z): 134 (M+1).

15

Procedimiento B

Se carga ácido trifluoroacético (7,62 mol; 576,42 ml) en un matraz de 3 bocas de 2.000 ml, equipado con termómetro, agitador magnético, línea de nitrógeno y embudo de adición. Se coloca el matraz en un baño de

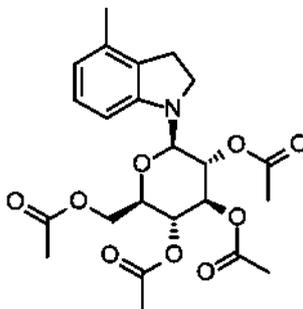
hielo/agua y se enfría la mezcla hasta 13 °C (temperatura interna). Se añade 4-metil-1H-indol (762,33 mmol; 94,25 ml; 100,00 g) durante 3 minutos sin permitir que la temperatura de la mezcla de reacción sea superior a 25 °C. Se agita la mezcla durante aproximadamente 1 minuto, después de que se haya completado la adición, permitiendo que la temperatura de la mezcla de reacción alcance 20 °C, y después se retira el matraz del baño de hielo y se agita durante 10 minutos a 20 °C. Se añade trietilsilano (876,68 mmol; 140,47 ml; 101,94 g) gota a gota a la reacción durante 41 minutos, permitiendo que la temperatura alcance 25 °C, y después se mantiene la temperatura entre 25 °C y 30 °C mediante el uso de un baño de agua frío, tal como se requiere. Cuando se completa la adición, se agita la mezcla de reacción durante 80 minutos. Se enfría la mezcla de reacción hasta 10 °C y después se vierte en una mezcla de hielo (1.000 g), ácido clorhídrico 5M (800 ml) y MTBE (2.000 ml) con agitación. Se debe indicar que es importante inactivarla en un sistema bifásico para evitar la formación de impurezas. Se separa la fase acuosa y se extraen los orgánicos con ácido clorhídrico (400 ml; 2 M), y después con ácido clorhídrico (2 x 200 ml; 2 M). Se combinan los extractos acuosos y se enfrían en agua enfriada con hielo. Se añade NaOH al 50 % en p/p para lograr un pH>10 manteniendo la temperatura por debajo de 30 °C. Se extrae la mezcla acuosa con MTBE (1.000 ml, después 200 ml). Se combinan los extractos orgánicos, se secan sobre sulfato de sodio anhidro, se filtran y se concentran a presión reducida para dar el compuesto del título (73 g; rendimiento del 68 %): espectro de masas (m/z): 134 (M+1).

Procedimiento C

Se añade una solución de 4-metil-1H-indol, (114,35 mmol; 15,00 g) en tetrahidrofurano (75,00 ml) a una solución de monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (137,22 mmol; 23,63 g) en agua (75,00 ml) con agitación a temperatura ambiente. Se añade el 5 % de platino sobre carbono (tipo 103 de Johnson Matthey; 1,50 g) en un manto de dióxido de carbono. Se coloca la mezcla en una atmósfera de hidrógeno (0,42 MPa) y se agita a temperatura ambiente durante una noche. Se diluye la mezcla de reacción con hidróxido de sodio (solución acuosa 2M; 148,65 mmol; 74,33 ml) y se agita con MTBE (150,00 ml). Se filtra la mezcla a través de tierra de diatomeas y se lava el lecho con MTBE (50 ml). Se separa el filtrado y se extraen las fases acuosas con MTBE (100 ml). Se combinan los orgánicos, se secan sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtran y se concentran a presión reducida para dar el compuesto del título (14,80 g; rendimiento del 97,17 %): espectro de masas (m/z): 134 (M+1).

Preparación 2

Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindolin-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo



Procedimiento A

Esquema I, Etapa A: se seca la D-glucosa (180,2 mmol) con agua (25 ml) y después se añade 4-metilindolina, (180,2 mmol) en etanol (200 ml). Se purga la mezcla con nitrógeno y se calienta a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante una noche. Después, se enfría a temperatura ambiente y se concentra a presión reducida. Se añaden diclorometano (200 ml), N,N-dimetilaminopiridina (9,0 mmol) y piridina (2,5 mol) al residuo resultante. Se enfría la mezcla en un baño de hielo y después se añade anhídrido de ácido acético (1,1 mol) gota a gota durante 30 min. Se concentra la mezcla a presión reducida, se diluye el residuo con acetato de etilo (500 ml) y se lava la mezcla con ácido cítrico (solución acuosa saturada; 50 ml) en agua (500 ml). Se lava con salmuera (500 ml), se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a presión reducida. Se añade etanol (500 ml) y se mezcla a 50 °C durante 10 minutos. Se enfría la mezcla a temperatura ambiente y después en hielo/agua. Se filtra la mezcla resultante y se seca a presión reducida para dar el compuesto del título (32 g; rendimiento del 38,32 %): espectro de masas (m/z): 464,2 (M+1).

Procedimiento B

Esquema I, Etapa A: se carga en un matraz de tres bocas de 20 l una solución de 4-metilindolina (1.000 g; 7,51 mol) en etanol:agua (8.000 ml:1.000 ml) y D-glucosa (1.480 g; 8,25 mol). Se calienta la mezcla durante 6 horas a 80 °C. Se concentra la mezcla a presión reducida y se disuelve el residuo en piridina:diclorometano (8.000 ml:8.000 ml). Se añade dimetilaminopiridina (91,79 g; 0,75 mol) y se enfría la mezcla de reacción hasta 10 °C (temperatura interna). Se añade anhídrido acético (9.000 ml) gota a gota. Cuando se completa la adición, se agita la mezcla de reacción durante 1 hora a 45 °C y después se agita durante una noche a temperatura ambiente. Se concentra la mezcla a

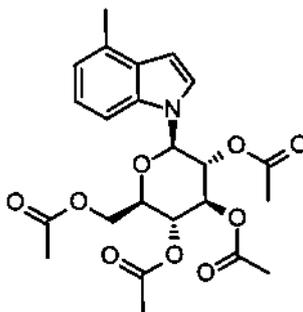
presión reducida. Se añaden acetato de etilo (20 l) y agua (10 l) al residuo. Se separa la capa orgánica y se extrae la capa acuosa con acetato de etilo (2 x 10 l). Se combinan las capas orgánicas y se lavan con una solución saturada de ácido cítrico (5 kg) en agua. Se seca la capa orgánica sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se cristaliza el residuo a partir de etanol para dar el compuesto del título (3.205,5 g; rendimiento del 92,11 %): espectro de masas (m/z): 464,2 (M+1).

Procedimiento C

Esquema I, Etapa A: se humedece la D-glucosa (517,30 mmol; 93,20 g) con agua (66 ml) y después se añade 4-metilindolina, 65,62 g; 492,67 mmol) en etanol (394 ml). Se purga la mezcla con nitrógeno y se calienta a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante una noche. Después, se enfría a temperatura ambiente y se concentra a presión reducida. Se añaden diclorometano (394 ml), trietilamina (2,82 mol; 393,72 ml) y N,N-dimetil-4-piridinamina (24,63 mmol; 3,01 g) al residuo resultante. Se enfría la mezcla en un baño de hielo y después se añade anhídrido de ácido acético (3,94 mol; 372,57 ml) gota a gota durante 30 min. Se concentra la mezcla a presión reducida, se diluye el residuo con acetato de etilo (984 ml) y se lava la mezcla con ácido cítrico (solución acuosa saturada; 50 ml) en agua (200 ml). Se separan las capas y se extrae la fase acuosa con acetato de etilo (600 ml, después 300 ml). Se combinan los orgánicos, se lavan con salmuera (600 ml) y se concentran a presión reducida. Se añade etanol (656 ml) y se mezcla a 50 °C durante 10 minutos. Se enfría la mezcla a temperatura ambiente y después en hielo/agua. Se filtra la mezcla resultante y se seca a presión reducida para dar el compuesto del título (112,2 g; rendimiento del 49,14 %): espectro de masas (m/z): 464,2 (M+1).

Preparación 3

20 Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindol-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo



Procedimiento A

Esquema I, Etapa B: se carga acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindol-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo (60,4 mmol) en un matraz de 500 ml. Se añade 1,4-dioxano (250 ml) y se enfría la solución hasta 10 °C. Se añade DDQ (63,4 mmol) en una parte. Se calienta la mezcla hasta temperatura ambiente y se agita durante 2 horas. Se filtra la mezcla de reacción y se lava el sólido con 1,4-dioxano (3 x 50 ml). Se concentra el filtrado a presión reducida y se filtra a través de un lecho de sílice (200 g) aclarando con EtOAc/diclorometano al 10 % (300 ml). Se lava con una solución saturada de bicarbonato de sodio (2 x 200 ml) y después agua (200 ml). Se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra, se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título (27,5 g; rendimiento del 98,6 %): espectro de masas (m/z): 462,5 (M+1).

Procedimiento B

Esquema I, Etapa B: se carga acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindol-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo (4.200 g; 9,08 mol) en un matraz de 20 l. Se añade 1,4-dioxano (42.000 ml) y se enfría la solución hasta 10 °C. Se añade DDQ (2.057 g; 9,08 mol) en 5 partes iguales manteniendo la temperatura a 10 °C. Después de completarse la adición, se calienta la mezcla hasta temperatura ambiente y se agita durante 2 horas. Se filtra la mezcla de reacción y se lava el sólido con 1,4-dioxano (3 veces). Se concentra el filtrado a presión reducida y se purifica el residuo mediante cromatografía en columna eluyendo con acetato de etilo al 0 %-20 % en hexano. Se combinan las fracciones puras con un lote separado de material preparado de manera similar partiendo de 2.500 g de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindol-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo y se concentran a presión reducida. Se disuelve el residuo en acetato de etilo (50 l) y se lava con una solución saturada de bicarbonato de sodio (2 x 20 l) y después agua (1 x 10 l). Se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra, se concentra a presión reducida y se cristaliza a partir de etanol (10 l) para dar el compuesto del título (4,632 kg; rendimiento del 69 %): espectro de masas (m/z): 462,5 (M+1).

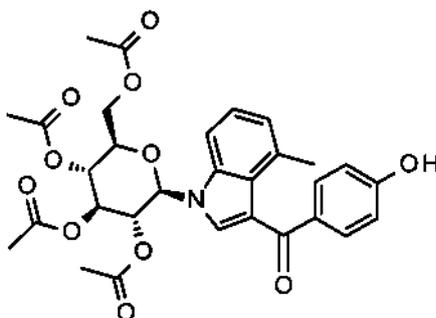
Procedimiento C

45 Esquema I, Etapa B: se disuelve acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindol-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo (112,2 g; 242,08 mmol) en 1,4-dioxano (1,68 l) a temperatura ambiente. Se enfría la mezcla en un baño de hielo/agua, después se añade 4,5-dicloro-3,6-dioxo-ciclohexa-1,4-dien-1,2-dicarbonitrilo (244,50 mmol; 55,50 g) por

- partes manteniendo la temperatura de la mezcla de reacción por debajo de 15 °C. Cuando se completa la adición, se agita la mezcla durante 5 minutos, después se retira del baño de hielo y se agita durante otros 5 minutos. Se filtra la mezcla y se lava el sólido con 1,4-dioxano (561,00 ml). Se concentra el filtrado a presión reducida, después se añade etanol (561,00 ml) al residuo, y se agita a 40 °C durante 20 minutos. Se enfría la mezcla en agua enfriada con hielo durante 15 min, se filtra, y se lava el sólido obtenido con etanol frío (100 ml). Se seca el sólido a presión reducida para dar el compuesto del título (82,5 g; rendimiento del 73,9 %): espectro de masas (m/z): 462,0 (M+1).

Preparación 4

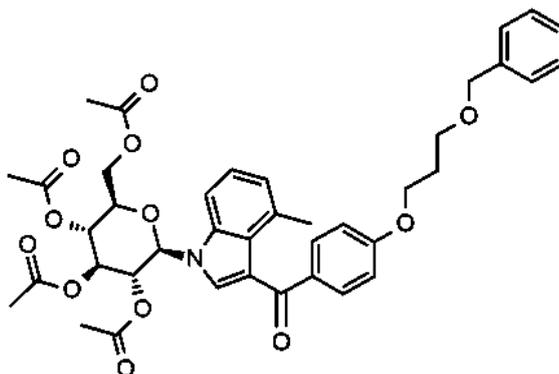
Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-(4-hidroxibenzoil)-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



- Esquema I, Etapa C: A un matraz de fondo redondo agitado de 0,5 l, purgado con nitrógeno, se cargan en orden: acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindol-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo (29,5 mmol), diclorometano (100 ml), y cloruro de 4-bromobenzoil (30,9 mmol). Se enfría la mezcla en un baño de hielo y se añade tricloruro de aluminio (88,4 mmol). Después de la agitación, con enfriamiento, durante 1,5 horas, se vierte la mezcla de reacción sobre hielo y se diluye con agua (100 ml) y cloroformo (100 ml). Se separa la fase orgánica y se lava la fase acuosa con cloroformo (100 ml). Se combinan los orgánicos y se lavan con una solución de bicarbonato de sodio concentrada (200 ml) y salmuera (200 ml). Se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra. Se purifica mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (330 g) eluyendo con EtOAc/cloroformo al 5 %-25 % para dar el compuesto del título (7,9 g; rendimiento del 46,09 %): espectro de masas (m/z): 582,4 (M+1), 580,4 (M-H).

Preparación 5

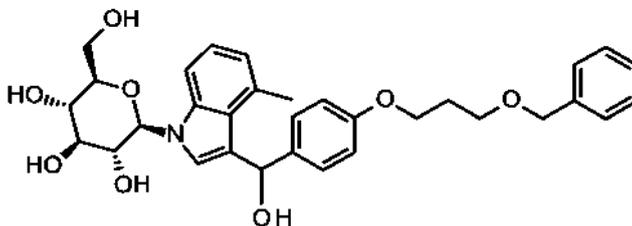
Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[4-(3-benciloxipropoxi)benzoil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



- Esquema I, Etapa D: A un matraz de fondo redondo agitado de 0,5 l, purgado con nitrógeno, se cargan en orden: acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-(4-hidroxibenzoil)-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (13,58 mmol), acetonitrilo (250 ml), y carbonato de potasio (67,92 mmol). A esta solución agitada, a temperatura ambiente, se añade 3-bromopropoximetilbenceno (27,2 mmol) y se calienta a 60 °C durante 16 horas con nitrógeno. Se diluye con EtOAc (200 ml) y se filtra. Se concentra el filtrado y se purifica mediante cromatografía ultrarrápida (330 g de gel de sílice) eluyendo con EtOAc/cloroformo al 2-40 %. Se concentra el producto que contiene fracciones para dar el compuesto del título (9,0 g. 90,79 %): espectro de masas (m/z): 730,4 (M+H).

Preparación 6

(2R,3R,4S,5S,6R)-2-[3-[[4-(3-benciloxi)fenil]-hidroxi-metil]-4-metil-indol-1-il]-6-(hidroximetil)tetrahidropiran-3,4,5-triol

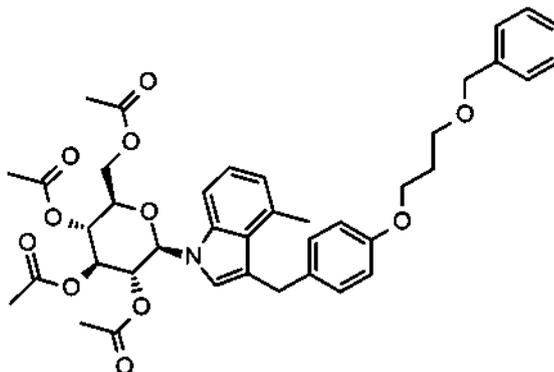


5 Esquema I, Etapa E: A un matraz de fondo redondo agitado de 0,5 l, purgado con nitrógeno, se cargan acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[4-(3-benciloxipropoxi)benzoil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (12,33 mmol), THF (50 ml) y etanol (100 ml). Se añade tetrahidroborato de sodio (37,0 mmol) y se agita a temperatura ambiente durante 6 horas. Se acidifica mediante adición gota a gota de HCL 5N y después se diluye con agua (200 ml) y diclorometano (200 ml). Se separan los orgánicos y se lavan con salmuera (200 ml). Se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra para dar el compuesto del título como una mezcla de diastereómeros de suficiente pureza para usarse sin purificación adicional en la etapa posterior (7,2 g, crudo) con espectro en masas (m/z): 546,4 (M+1-18).

10

Preparación 7

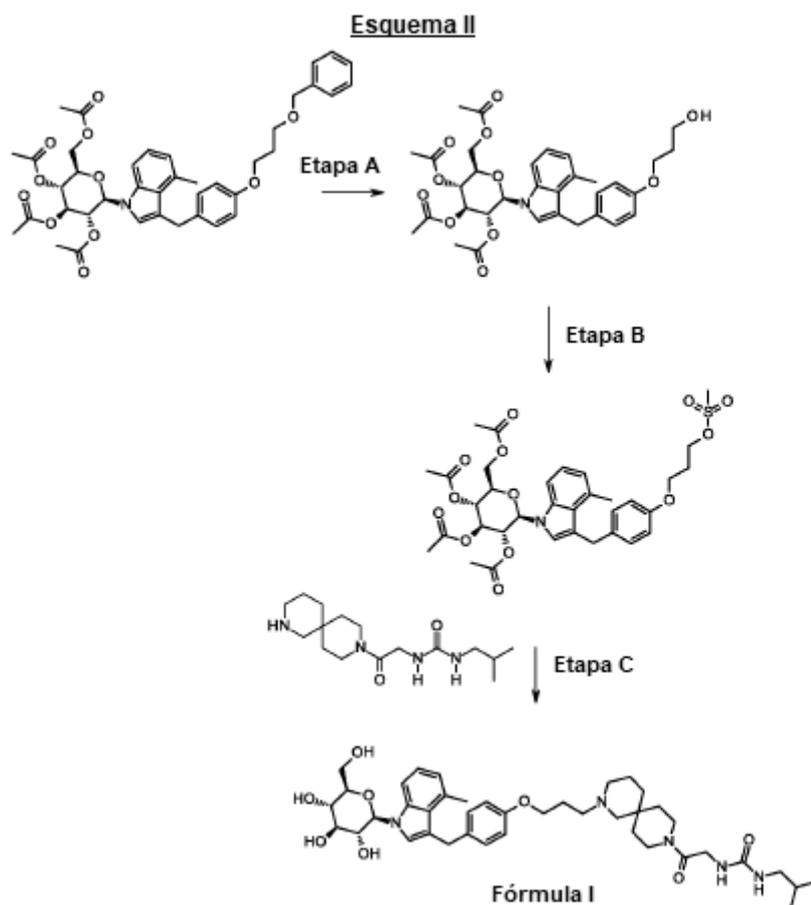
Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[4-(3-benciloxipropoxi)fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



15 Esquema I, Etapa F: A un matraz de fondo redondo de 0,5 l con nitrógeno, se cargan (2R,3R,4S,5S,6R)-2-[3-[[4-(3-bencilopropoxi)fenil]-hidroxi-metil]-4-metil-indol-1-il]-6-(hidroximetil)tetrahidropiran-3,4,5-triol (7,2 g. Crudo), después acetonitrilo (50 ml), y después diclorometano (100 ml). Se enfría la mezcla hasta 0 °C. Se añade trietilsilano (63,87 mmol) seguido de la adición gota a gota de eterato de trifluoruro de boro (51,10 mmol). Cuando se completa la adición, se agita la mezcla de reacción en el baño de hielo durante 5 minutos, después se inactiva mediante la adición gota a gota de una solución de bicarbonato de sodio (20 ml). Se diluye con agua (200 ml) y EtOAc (500 ml). Se separan las capas, se lava la fase orgánica con salmuera (200 ml) y se concentra a presión reducida. Se añaden piridina (50 ml), diclorometano (50 ml) y N,N-dimetilaminopiridina (0,41 mmol). Se enfría en un baño de hielo y se añade anhídrido acético (127,74 mmol). Se calienta hasta temperatura ambiente y se agita durante 16 horas. Se concentra a presión reducida y después se añade EtOAc (500 ml). Se lava con una solución ácida cítrica (200 ml) seguido de agua (200 ml) y salmuera (200 ml). Se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra. Se purifica mediante cromatografía ultrarrápida (330 g de gel de sílice) eluyendo con EtOAc/cloroformo al 5 %-20% para dar el compuesto del título (7,5 g, 82,03 %): espectro de masas (m/z): 716,3 (M+1).

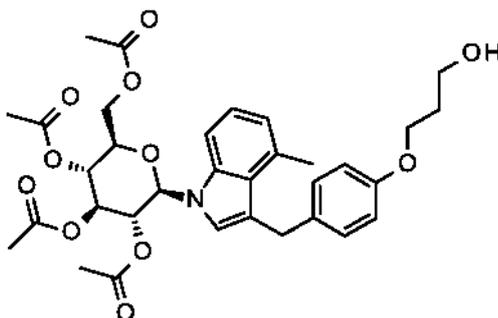
20

25



Preparación 8

Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-(3-hidroxiopropoxi)fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



5

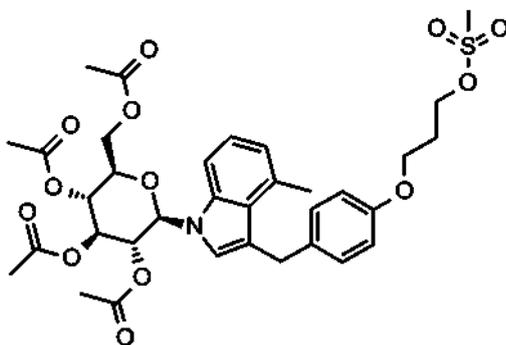
Esquema II, Etapa A: A un matraz de fondo redondo de 0,5 l se añaden acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-(3-benciloxipropoxi)fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (10,34 mmol) y acetato de etilo (80 ml). A esta solución se añade Pd/C al 5 % previamente humedecido con acetato de etilo (20 ml). Mientras se agita, se purga al vacío la mezcla con hidrógeno (3x), después se agita con hidrógeno durante 16 horas. Se filtra a través de tierra de diatomeas y se aclara con acetato de etilo (100 ml). Se concentra el filtrado a presión reducida para dar el compuesto del título de suficiente pureza para su uso en la siguiente etapa (6,5 g): espectro de masas (m/z): 626,4 (M+1).

10

Preparación 9

Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[4-metil-3-[[4-(3-metilsulfoniloxipropoxi)fenil]metil]indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo

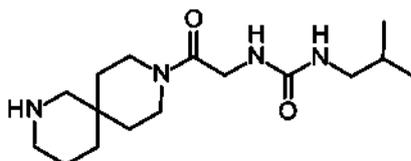
15



5 Esquema II, Etapa B: A un matraz de fondo redondo de 0,5 l se añaden acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-(3-hidroxiopropoxi)fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (6,5 g, crudo), diclorometano (100 ml) y trietilamina (25,97 mmol). Se enfría en un baño de hielo y se añade cloruro de metanosulfonilo (12,47 mmol) gota a gota durante 10 minutos. Se calienta hasta temperatura ambiente y se agita durante 1 hora. Se diluye con diclorometano (100 ml) y se lava con agua (200 ml) y salmuera (200 ml). Se secan los orgánicos sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran al vacío para dar el compuesto del título de suficiente pureza para su uso en la siguiente etapa (7,2 g): espectro de masas (m/z): 704,4 (M+1).

Preparación 10a

10 1-[2-(4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-oxo-etil]-3-isobutil-urea



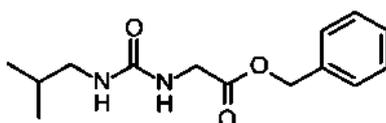
15 A un matraz de fondo redondo se añaden hidrocloreuro de terc-butil 4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-carboxilato (1,38 mmol), ácido 2-(isobutilcarbamoilamino)acético (1,15 mmol), dimetilformamida (3,8 ml), trietilamina (1,72 mmol) y HATU (1,26 mmol). Se agita a temperatura ambiente durante 16 horas, después se diluye con agua (50 ml) y acetato de etilo (50 ml). Se lava la fase orgánica con cloruro de amonio concentrado (50 ml) y salmuera (50 ml). Se secan los orgánicos sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida. Se purifica el intermediario mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de cartucho de gel de sílice) eluyendo con el 0-10 % de metanol en acetato de etilo para producir terc-butil 9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-carboxilato (0,38 g, 0,93 mmol): EM (m/z): 411,2 (M+H).

20 A una solución de terc-butil 9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-carboxilato (0,38 g, 0,93 mmol) en 1,4-dioxano (1,75 ml), se añade 1,4-dioxano (1,75 ml), se añade HCl 4M en 1,4-dioxano (8,77 mmol). Se agita la reacción a temperatura ambiente durante 5 horas, después se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo mediante la disolución en metanol y la carga en una columna SCX (intercambio iónico). Se aclara la columna cargada con metanol (3 x 25 ml), después se lava abundantemente la columna con amoniaco 2N en metanol. Se combinan y se concentran los lavados de amoniaco para producir el compuesto del título (0,25 g, 0,81 mmol): EM (m/z): 311,0 (M+H).

Preparación 10b

Preparación alternativa de 1-[2-(4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-oxo-etil]-3-isobutil-urea.

Preparación de bencil 2-(isobutilcarbamoilamino)acetato.

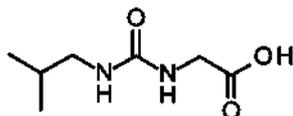


30 Se cargan ácido 3-metilbutanoico (106,36 g), tolueno (800 ml) y trietilamina (126,46 g) en un matraz de tres bocas (R1). Se calienta el R1 hasta 90 °C. Se añade una solución de DPPA (289,3 g) en tolueno (400 ml) lentamente (cuidado: N₂ liberado). Se agita el R1 a 90 °C durante 30-60 min, después se enfría hasta 20-30 °C. En un matraz separado (R2), se cargan hidrocloreuro de bencil 2-aminoacetato (200 g), trietilamina (150,54 g), y tolueno (1.000 ml) y se agita a 20-30 °C durante 1-2 horas. Se añade la mezcla de R1 a R2 gota a gota lentamente mediante un embudo de adición a 20-30 °C y se agita durante 1-2 horas. Se añade lentamente la mezcla de reacción al agua (2.000 ml) con agitación vigorosa. Se separa el orgánico y se extrae la capa acuosa con EtOAc (2 x 1.000 ml). Se

35

combinan las capas orgánicas y se lavan con ácido clorhídrico 1 N (1.000 ml), después NaHCO₃ ac. al 7 % (1.000 ml), después agua (1.000 ml), después salmuera al 15 % (1.000 ml). Se concentra a presión reducida. Se suspende el residuo con heptano (1.000 ml) y después se filtra el sólido. Se seca la torta de filtro a presión reducida por debajo de 40 °C para dar bencil 2-(isobutilcarbamoilamino)acetato (218 g; ensayo del 98,1 %; rendimiento del 81,5 %).

5 Preparación de ácido 2-(isobutilcarbamoilamino)acético.



10 Se carga bencil 2-(isobutilcarbamoilamino)acetato (200 g; ensayo del 98.1 %), se secan el Pd/C (20 g; 10 % en p/p), y el alcohol isopropílico (2.000 ml) en un autoclave. Se desgasifica al vacío y se purga con hidrógeno tres veces. Se agita a 60 °C con 50-60 psi de H₂ durante 4 horas. Se enfría la mezcla hasta 20-30 °C y se filtra a través de tierra de diatomeas y se concentra el filtrado a presión reducida a 45-50 °C hasta 1-2 vol. Se concentra el acetonitrilo (1.000 ml) y se concentra a presión reducida a 45-50 °C hasta 2-3 vol. Se enfría la mezcla hasta 5-10 °C y se filtra. Se seca la torta a presión reducida a 45-50 °C para dar ácido 2-(isobutilcarbamoilamino)acético (112 g; ensayo del 95,2 %; rendimiento del 82,5 %).

Preparación del compuesto del título final.

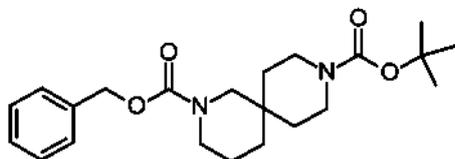
15 A un matraz de fondo redondo se añaden hidrocloreuro de terc-butil 4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-carboxilato (1,38 mmol), ácido 2-(isobutilcarbamoilamino)acético (1,15 mmol), dimetilformamida (3,8 ml), trietilamina (1,72 mmol) y HATU (1,26 mmol). Se agita a temperatura ambiente durante 16 horas, después se diluye con agua (50 ml) y acetato de etilo (50 ml). Se lava la fase orgánica con cloruro de amonio concentrado (50 ml) y salmuera (50 ml). Se secan los orgánicos sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran a presión reducida. Se purifica el intermediario mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de cartucho de gel de sílice) eluyendo con el 0-10 % de metanol en acetato de etilo para producir terc-butil 9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-carboxilato (0,38 g, 0,93 mmol): EM (m/z): 411,2 (M+H).

25 A una solución de terc-butil 9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-carboxilato (0,38 g, 0,93 mmol) en 1,4-dioxano (1,75 ml), se añade 1,4-dioxano (1,75 ml), se añade HCl 4M en 1,4-dioxano (8,77 mmol). Se agita la reacción a temperatura ambiente durante 5 horas, después se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo mediante la disolución en metanol y la carga en una columna SCX (intercambio iónico). Se aclara la columna cargada con metanol (3 x 25 ml), después se lava abundantemente la columna con amoniaco 2N en metanol. Se combinan y se concentran los lavados de amoniaco para producir el compuesto del título final, 1-[2-(4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-oxo-etil]-3-isobutil-urea (0,25 g, 0,81 mmol): EM (m/z): 311,0 (M+H).

30 Preparación 10c

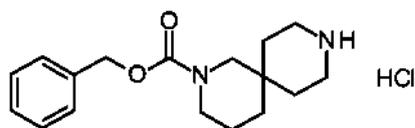
Preparación alternativa de 1-[2-(4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-oxo-etil]-3-isobutil-urea

Preparación de O4-bencil O9-terc-butil 4,9-diazaespiro[5.5] undecan-4,9-dicarboxilato.



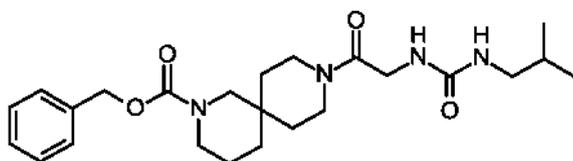
35 A un reactor de temperatura controlada de 20 l se carga hidrocloreuro de terc-butil4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-carboxilato (2,06 mol; 600,00 g) seguido de diclorometano (6,00 l), después se añade trietilamina (4,33 mol; 604 ml). Se ajusta la camisa del reactor hasta 0 °C. Cuando la temperatura de la mezcla de reacción alcanza 5 °C, se añade clorofornato de bencilo (2,10 mol; 311 ml) durante aproximadamente 20 minutos manteniendo la temperatura interna por debajo de 20 °C. Cuando se completa la adición, se calienta la camisa hasta temperatura ambiente y se agita la mezcla durante una noche. Se vierte la mezcla de reacción en agua (4 l) y se separa la mezcla. Se concentran los orgánicos a presión reducida para dar el compuesto del título (838 g; pureza asumida del 95,65 % y rendimiento del 100 % para los fines de cálculo en la siguiente reacción) con un espectro en masas (m/z): 411,2 (M+23).

Preparación de hidrocloreuro de 4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-carboxilato.



5 A un reactor de temperatura controlada de 20 l con camisa ajustada a 0 °C, se añade una solución de 04-bencil O9-terc-butil 4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4,9-dicarboxilato (2,06 mol; 838,00 g; pureza del 95,65 %) en 1,4-dioxano (19,63 mol; 1,68 l). Cuando la temperatura de la solución es 5 °C, se añade cloruro de hidrógeno (4M en 1,4-dioxano; 10,32 mol; 2,58 l) a tal velocidad que la temperatura no aumenta por encima de 20 °C. Cuando se completa la adición, se calienta la solución hasta temperatura ambiente y se agita durante una noche. Se concentra la mezcla de reacción a presión reducida para dar una suspensión espesa. Se añade MTBE (3,35 l) y se agita la mezcla durante 30 minutos a 40 °C. Se deja enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente y se filtra el precipitado. Se lava el precipitado con MTBE (838 ml). Se deja secar el precipitado sobre el filtro y después se transfiere hasta un horno de vacío para un secado adicional para dar el compuesto del título (638 g; rendimiento del 95 %) con un espectro en masas (m/z): 289 [M (base libre) +1].

Preparación de bencil 9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-carboxilato.



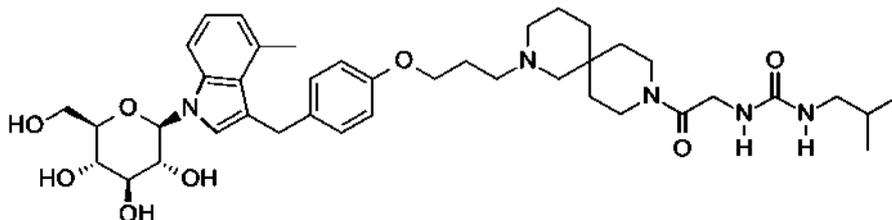
15 Al ácido 2-(isobutilcarbamoilamino)acético (667,05 mmol; 116,20 g) en diclorometano (1,16 l) se añade 1,1'-carbonildiimidazol (700,40 mmol; 113,57 g) en partes. Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se marca esta mezcla A. En un vaso separado se añaden hidrocioruro de 4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-carboxilato (700,40 mmol; 413,68 g), diclorometano (581 ml) y trietilamina (1,33 mol; 186 ml). Se agita la mezcla. Se marca esta mezcla B. Se vierte la mezcla A en la mezcla B durante 2 minutos. Se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente. Después de 3 horas, se añade agua (1.000 ml). Se separa la fase orgánica y se concentra a presión reducida. Se añade acetato de etilo (581,00 ml) y se agita la mezcla durante 20 minutos a 40 °C, después se enfría hasta temperatura ambiente, después en hielo durante 20 minutos. Se filtra el precipitado y se seca adicionalmente en un horno de vacío para dar el compuesto del título (137,1 g; rendimiento del 46,23 %) con un espectro en masas (m/z): 445,2 (M+1). Después de dejar que el filtrado repose, se forma un precipitado. Se filtra este precipitado y se seca adicionalmente en un horno de vacío para dar el compuesto del título. (9,30 g; rendimiento del 3,14 %).

25 Preparación del compuesto del título final.

Se suspende el bencil 9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-2,9-diazaespiro[5.5]undecan-2-carboxilato (239,78 mmol; 106,60 g) en etanol (852,80 ml) y ciclohexeno (1,20 mol; 121,90 ml) y se añade el 5 % de paladio sobre carbón (24 g; contenido de humedad del 55,4 %). se calienta la mezcla a reflujo y se agita durante 45 min. Se enfría la mezcla hasta temperatura ambiente, se filtra a través de un lecho de tierra de diatomeas lavando el sólido con etanol, y se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título final, 1-[2-(4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-oxo-etil]-3-isobutil-urea (79,2 g; pureza del 94 %; rendimiento del 100 %) con un espectro en masas (m/z): 311,2 (M+1).

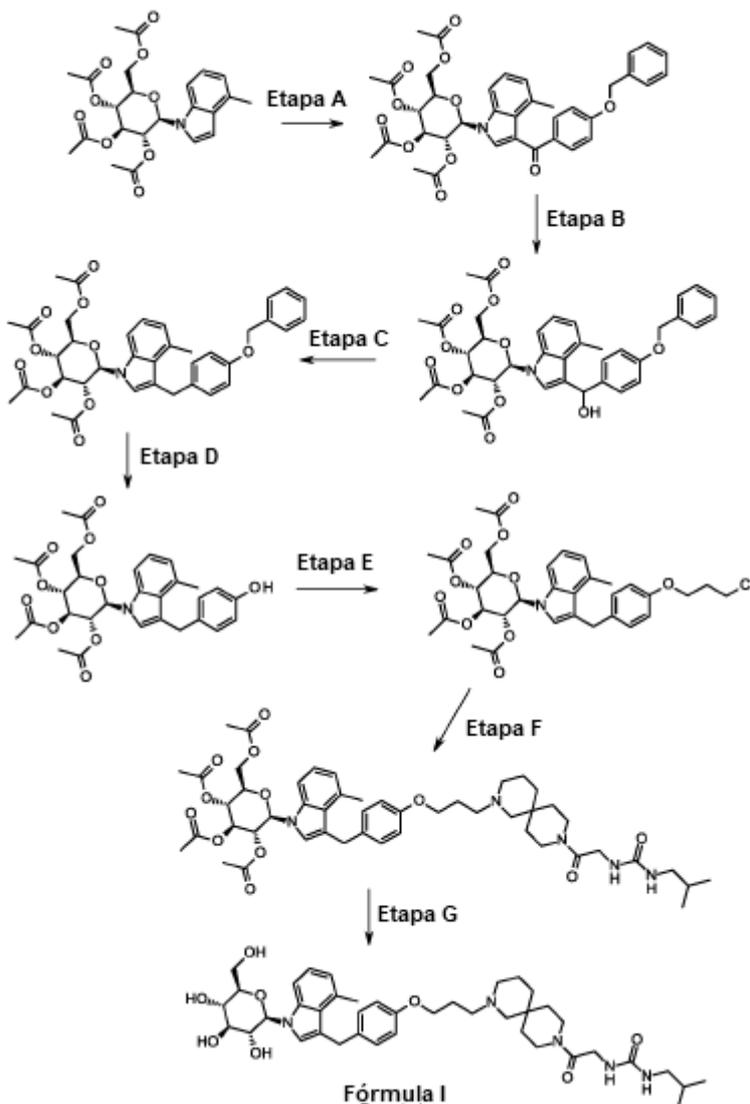
Ejemplo 1a

1-isobutil-3-[2-[4-[3-[4-[[4-metil-1-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidropiran-2-il]indol-3-il]metil]fenoxi]propil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il]-2-oxo-etil]urea

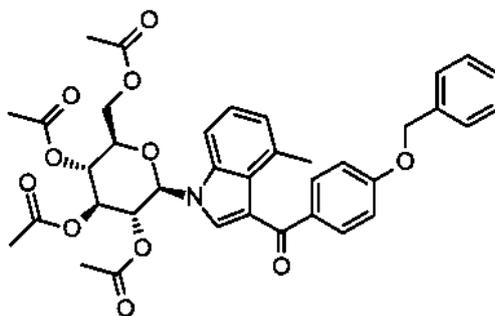


35 Esquema II, Etapa C: A un matraz de fondo redondo de 0,25 l se añaden acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[4-metil-3-[[4-(3-metilsulfoniloxipropoxi)fenil]metil]indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (7,2 g, crudo), 1-[2-(4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il)-2-oxo-etil]-3-isobutil-urea (12,28 mmol), acetonitrilo (100 ml), y diisopropiletilamina (40,92 mmol). Se calienta a 80 °C durante 16 horas, después se concentra a presión reducida. Se añaden metanol (50 ml) y metóxido de sodio (20,46 mmol, solución al 30 % en MeOH) y se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. Se inactiva mediante la adición de un trozo pequeño de hielo seco. Se concentra a presión reducida. Se purifica mediante cromatografía ultrarrápida de fase inversa (cartucho de C18 de 400 g) eluyendo con agua al 5-

80 % (ácido fórmico al 0,1 %) en acetonitrilo (ácido fórmico al 0,1 %) en tres partes. Se concentra a presión reducida para producir el compuesto del título como una sal de ácido fórmico que contiene pequeñas impurezas. Se disuelve la sal en amoníaco 7N en metanol (20 ml) y después se concentra para formar la base libre. Se purifica la base libre mediante cromatografía ultrarrápida (cartucho de gel de sílice de 330 g) eluyendo con amoníaco 7N al 5 % en metanol/diclorometano. Se concentran las fracciones del producto a presión reducida para producir el compuesto del título (1,75 g, 22,81 %): EM (m/z): 746,6 (M+H). RMN ¹H (400,31 MHz, CD₃OD): δ 7,28 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,02 (s, 1H), 6,97 (t, J = 8,8 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 5,37 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 4,15 (s, 2H), 3,95 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,91 (d, J = 1,6 Hz, 2H), 3,87 - 3,80 (m, 2H), 3,65 (dd, J = 11,6, 5,6 Hz, 1H), 3,57 - 3,38 (m, 5H), 3,31 (bm, 2H), 2,90 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 2,46 - 2,13 (m, 8H), 1,88 (pentuplete, J = 6,8 Hz, 2H), 1,68 (septuplete, J = 6,8 Hz, 1H), 1,61 - 1,28 (m, 8H), 0,86 (d, J = 6,8, 6H).

Esquema III**Preparación 11**

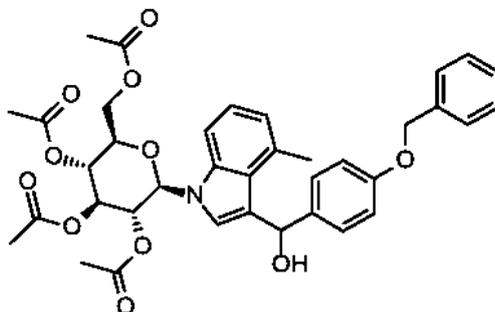
Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-(4-benciloxibenzoil)-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



Esquema III, Etapa A: a un reactor de temperatura controlada de 20 l se cargan: diclorometano (7,00 l), acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-(4-metilindol-1-il)tetrahidropiran-2-il]metilo (1,52 mol; 700,00 g) y cloruro de 4-benciloxibenzoil (1,67 mol; 411,63 g). Se ajusta la camisa del reactor hasta -30 °C, se deja enfriar el contenido del reactor y se añade tetracloruro de estaño (1,97 mol; 513,74 g) durante 30 min manteniendo la temperatura interna entre -5 y -10 °C. Cuando se completa la adición, se agita la mezcla durante 20 minutos a aproximadamente -9 °C. Se vierte la mezcla de reacción fría sobre 20 l de hielo triturado. Se separa la capa orgánica y se extrae la fase acuosa con diclorometano. Se combinan los extractos orgánicos y se concentran a presión reducida hasta aproximadamente 2 l. Se añaden 7 l de MTBE y se lavan con ácido clorhídrico (1M; 2 x 8 l), después agua (8 l), después carbonato de hidrógeno de sodio (solución acuosa saturada), después salmuera. Se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto del título, que contiene MTBE al ~17 % en p/p (1.377 g; pureza asumida del 74 % y rendimiento del 100 % para los fines de cálculo en la siguiente reacción) con un espectro en masas (m/z): 672,2 (M+1).

Preparación 12

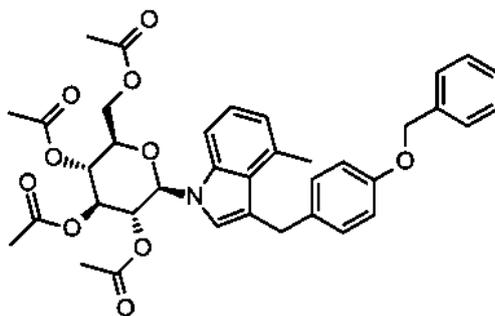
15 Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[(4-benciloxifenil)-hidroxi-metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



Esquema III, Etapa B: a un reactor agitado de temperatura controlada se carga heptahidrato de cloruro de cerio (III) (4,55 mol; 1,12 kg) en etanol (4,96 l) y se agita para dar una solución. Se añaden acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-(4-benciloxibenzoil)-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (1,52 mol; 1,38 kg) y tetrahidrofurano (7,57 l). Se enfría la mezcla hasta +2 °C y se añade tetrahidroborato de sodio (4,55 mol; 172,18 g) en partes durante 3 horas manteniendo la temperatura interna entre 0 y +5 °C durante la adición. Cuando se completa la adición, se agita la mezcla a 5 °C durante 1 hora. Se añade adicionalmente tetrahidroborato de sodio (687,24 mmol; 26,00 g) y se agita la mezcla durante 30 minutos. Se añade tetrahidroborato de sodio adicional (0,45 equiv; 687,24 mmol; 26,00 g) y se agita la mezcla durante una noche. Se vierte la mezcla en MTBE (5 l) y agua (10 l). Se añade lentamente ácido clorhídrico (2 N) con agitación hasta que la mezcla sea ligeramente ácida respecto al pH del papel. Se separa la capa orgánica, se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a presión reducida para proporcionar el compuesto del título de pureza aceptable para su uso en la siguiente etapa (1.547 g; pureza asumida del 66 % y rendimiento del 100 % para los fines de cálculo en la siguiente reacción) con un espectro en masas (m/z): 656,4 (M+1-18).

Preparación 13

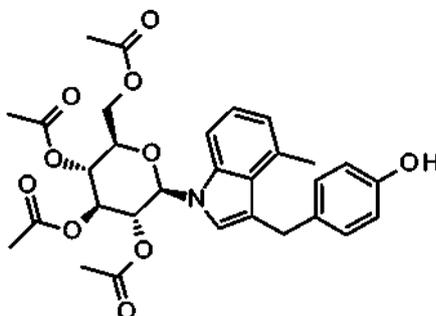
de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[(4-benciloxifenil)metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



Esquema III, Etapa C: se enfría una mezcla de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[(4-benciloxifenil)hidroximetil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (1,52 mol; 1,55 kg) en acetonitrilo (6,19 l) y diclorometano (6,19 l) en un baño de salmuera/hielo hasta que la temperatura interna sea de -5 °C, después se añade trietilsilano (3,79 mol; 607 ml) durante 2 minutos. Se añade eterato de trifluoruro de boro (3,79 mol; 479 ml) gota a gota manteniendo la temperatura interna por debajo de +5 °C. Se agita la mezcla en el baño de hielo durante 30 min. Se añade con cuidado una mezcla de NaHCO₃ (solución acuosa saturada; 5 l) y agua (4 l). Se separa la fase orgánica y se lava con agua, después salmuera, después se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a presión reducida para proporcionar una mezcla del compuesto y compuestos del título con uno o más de los grupos acetilo que faltan. Se disuelve el residuo en diclorometano (1,86 l) y se añaden anhídrido de ácido acético (7,58 mol; 716 ml) y N,N-dimetil-4-piridinamina, (75,78 mmol; 9,26 g). Se calienta la mezcla hasta 40 °C y se agita suavemente para ayudar a la disolución, después se agita la mezcla durante 1 hora a temperatura ambiente. Se concentra la mezcla a presión reducida y se suspende el residuo en MTBE (6 l) durante una noche. Se recoge el sólido mediante filtración y se seca en un horno a 60 °C a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (692,8 g; rendimiento del 70 %) con un espectro en masas (m/z): 658,3 (M+1) and 680,2 (M+23).

Preparación 14

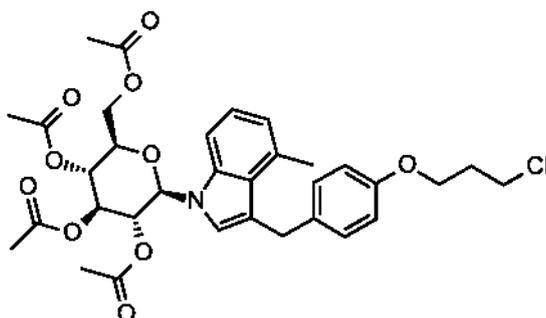
Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[(4-hidroxifenil)metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



Esquema III, Etapa D: A una mezcla de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[(4-benciloxifenil)metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (1,00 equiv; 1,05 mol; 692,80 g), metanol (85,59 mol; 3,46 l; 2,74 kg), y tetrahidrofurano (42,57 mol; 3,46 l; 3,07 kg) se añade formato de amonio (5,27 mol; 332,10 g). Se purga el vaso de reacción con nitrógeno y se añade 5 % de paladio sobre carbón vegetal (69,30 g; tipo 87L de Johnson Matthey, contenido de humedad del 57,8 %) como una suspensión en alcohol isopropílico. Se calienta la mezcla a 38-42 °C durante 15 min (se observa un burbujeo moderado). Se retira el baño de calentamiento y se agita la mezcla de reacción durante 15 minutos mientras se enfría. Se filtra la mezcla a través de tierra de diatomeas y se concentra el filtrado a presión reducida. Se reparte el residuo entre acetato de etilo (7,5 l) y agua (1 l). Se separa la capa orgánica y se lava con salmuera, después se seca sobre MgSO₄. Se filtra y se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título (594 g; rendimiento del 99 %) con un espectro en masas (m/z): 568,2 (M+1) and 590,2 (M+23).

Preparación 15

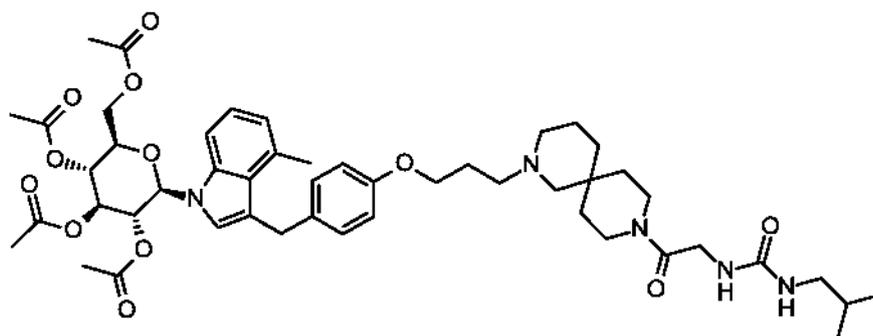
Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-(3-cloropropoxi)fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



- Esquema III, Etapa E: A una mezcla de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[(4-hidroxifenil)metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (150,64 mmol; 85,50 g) y acetonitrilo (855,00 ml), se añaden 1-bromo-3-cloro-propano, (180,76 mmol; 17,88 ml) y carbonato de potasio (301,27 mmol; 41,64 g). Se coloca la mezcla en nitrógeno y se calienta la mezcla a un reflujo suave durante 2 días. Se añade adicionalmente 1-bromo-3-cloro-propano, (45,19 mmol; 4,47 ml) y se continúa calentando la mezcla durante una noche. Se concentra la mezcla a presión reducida y se reparte el residuo entre acetato de etilo y agua. Se separa la capa orgánica y se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a presión reducida para dar el compuesto del título de suficiente pureza para la siguiente etapa. (124,4 g; pureza asumida del 78 % y rendimiento del 100 % para los fines de cálculo en la siguiente reacción) con un espectro en masas (m/z): 644,2/646,2 (M+1).

Preparación 16

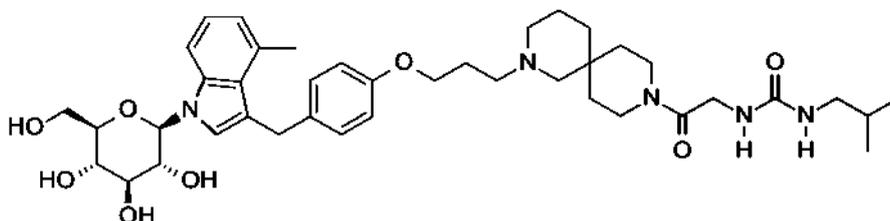
Acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-[3-[9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il]propoxi]fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo



- Etapa III, Etapa F: a una solución agitada de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-(3-cloropropoxi)fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (143,38 mmol; 118,40 g) en acetonitrilo (829 ml) se añaden 1-[2-(3,8-diazaespiro[5.5]undecan-3-il)-2-oxo-etil]-3-isobutil-urea (143,38 mmol; 47,35 g), carbonato de potasio (286,75 mmol; 39,63 g), y yoduro de potasio (143,38 mmol; 23,80 g). Se calienta la mezcla a reflujo en nitrógeno durante una noche. Se enfría la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se añaden anhídrido de ácido acético (1,43 mol; 135,53 ml) y N,N-dimetil-4-piridinamina (14,34 mmol; 1,75 g). Se agita la mezcla durante 1 hora. Se concentra la mezcla a presión reducida y se reparte el residuo entre agua y EtOAc. Se separa la capa orgánica y se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo se combina con otro lote preparado de manera similar partiendo de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-(3-cloropropoxi)fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (6,2 mmol). Se purifica mediante cromatografía de columna ultrarrápida sobre gel de sílice (1,5 kg) eluyendo con 99:1 de EtOAc:triethylamina (1cv), EtOAc (3cv) y 190:10:1 de EtOAc:MeOH:triethylamina (5cv) para proporcionar el compuesto del título (68,2 g; rendimiento del 49 %) con un espectro en masas (m/z): 918,6 (M+1).

Ejemplo 1b

- Preparación alternativa de 1-isobutil-3-[2-[4-[3-[4-[4-metil-1-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidropiran-2-il]indol-3-il]metil]fenoxi]propil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-9-il]-2-oxo-etil]urea



Esquema III, Etapa G: se enfría una mezcla de acetato de [(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-triacetoxi-6-[3-[[4-[3-[9-[2-(isobutilcarbamoilamino)acetil]-4,9-diazaespiro[5.5]undecan-4-il]propoxi]fenil]metil]-4-metil-indol-1-il]tetrahidropiran-2-il]metilo (74,28 mmol; 68,20 g) y metanol (341,00 ml) en un baño de hielo. Se añade metóxido de sodio (111,43 mmol; 6,02 g). Se agita la mezcla durante 10 minutos. Se vierte la mezcla en agua (3,5 l), después se filtra la mezcla. Se lava el sólido con agua, se seca en el sinterizado, y se seca adicionalmente en un horno de vacío a 60 °C para dar el compuesto del título (49,8 g, rendimiento del 89 %) con espectro en masas (m/z): 750,6 (M+1).

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

El ADNc que codifica SGLT1 de ser humano (*slc5a1*, NM_000343) y SGLT1 de ratón (*slc5a1*, NM_019810.4) están disponibles en el mercado a través de Openbiosystems, Invitrogen and Openbiosystems, respectivamente. El ADNc se clona en pcADN3.1 + para la expresión en mamíferos y se transfecta establemente en células de ovario de hámster chino (CHO)-K1 usando procedimientos de transfección estándar de mamíferos. Se selecciona un subclon, que expresa SGLT, de cada línea celular que expresa en exceso basado en la resistencia a neomicina (Geneticin, Invitrogen) y actividad en el ensayo de absorción de ¹⁴C- α -metil-D-glucopiranosido (¹⁴C-AMG) (véase más adelante). Las células que expresan SGLT estables se mantienen usando técnicas de cultivo celular estándares.

La actividad de SGLT se mide como absorción de ¹⁴C-AMG dependiente de sodio en las líneas celulares anteriores descritas tal como sigue. Se siembran cien μ l de medio de cultivo que contiene 30.000 células en cada pocillo de una placa de poli-D-lisina BioCoat de 96 pocillos (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 μ l de tampón de reacción (NaCl 140 mM, KCl 2 mM, CaCl₂, MgCl₂ 1 mM, y ácido N-2-hidroetilpiperazina-N'-2-etanosulfónico 14 mM (Hepes), pH 7,5). El tampón en exceso se saca en papel absorbente. Se añaden treinta y cinco μ l de tampón de reacción a cada pocillo. Se dispensan en cada pocillo cinco μ l de un dimetilsulfóxido (DMSO) al 10 % en el tampón de reacción que contiene concentraciones variables del compuesto o no compuesto de ensayo como control. La reacción se inicia mediante la adición de 10 de ¹⁴C-AMG en el tampón de reacción para fabricar una concentración final de 4 μ M. La placa se incubó a 37 °C durante 125 minutos. La reacción se terminó mediante la extracción por aspiración del tampón de reacción y después se lavó tres veces con 200 μ l de tampón de reacción helado. La aspiración manual se aplica para asegurar la retirada completa del tampón de reacción. Se añaden diez μ l de NaOH 0,1 N a cada pocillo y después se añaden 100 μ l de cóctel de centelleo Supermix (PerkinElmer). Después del mezclado, la señal de centelleo en la placa se cuenta en un MicroBeta (PerkinElmer). Se ajusta una curva de respuesta de diez dosis a un modelo de cuatro parámetros empírico que usa ActivityBase (ID Business Solution) para determinar la concentración del inhibidor en una inhibición semimáxima (IC₅₀).

El compuesto del Ejemplo 1 en el presente documento se somete a ensayo esencialmente tal como se ha descrito anteriormente y presenta un IC₅₀ para SGLT1 de ser humano de 35,2 \pm 14,1 nM (n=5) y un IC₅₀ para SGLT1 de ratón de 14,9 \pm 10,4 nM (n=5). Estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 inhibe el SGLT1 de ser humano y de ratón *in vitro*.

Efectos de la reducción de glucosa en el ensayo de tolerancia a la glucosa oral (OGTT)

El compuesto de ensayo se formula mediante la adición de un vehículo de hidroxietilcelulosa al 1 %, Tween® 80 w al 0,25 %/antiespumante al 0,05 % al compuesto de ensayo previamente pesado para fabricar una solución de 1 mg/ml. La mezcla se sonica en sonda durante aproximadamente 1 minuto. Se añade una barra de agitación, y se agita la suspensión resultante continuamente en toda la dosificación.

Se usan dos grupos separados de ratones C57B1/6 alojados individualmente para demostrar la reducción de glucosa durante los OGTT. El primer conjunto de ratones se somete a un OGTT de 18 horas después de la administración del compuesto, y el segundo 8 horas después de la administración del compuesto. El primer conjunto de animales se pesa y se usan pesos corporales para determinar los grupos de estudio (n=5), dentro de un intervalo de trabajo de 26-30 g. Después del agrupamiento, se administra con sonda por vía oral 10 ml/kg de vehículo o preparación del compuesto de ensayo a los ratones, con una diferencia de treinta segundos. Los ratones son entonces ambos conjuntos de ratones, de OGTT de 18 y 8 horas, que se dejan en ayunas después mediante la retirada del acceso al alimento, en las últimas horas de la tarde del día anterior al ensayo. La siguiente mañana, los ratones del OGTT de 8 horas se pesan y se les extrae sangre (mediante un corte en la cola) para determinar la glucosa. Los grupos de estudio (n=5) se determinan usando valores de glucosa en ayunas, dentro de un intervalo de trabajo de 80-100 mg/dl. Después del agrupamiento, el compuesto se administra con sonda por vía oral a los ratones, con una diferencia de treinta segundos. Estos ratones se someten después a un OGTT de 8 horas después de la administración del compuesto.

A las ocho y dieciocho horas después de iniciarse cada tratamiento del compuesto respectivo, se toma una muestra de sangre de referencia para medir la glucosa (del primer animal). Al animal se le da inmediatamente después una dosis oral de dextrosa al 50 % (Hospira®) a 3 g/kg. Para determinar la glucosa, se toman muestras de sangre, con una diferencia de treinta segundos exactamente, mediante la vena de la cola, de manera que se recoge la sangre de cada animal a los 20, 40 y 60 minutos después de la dosis de dextrosa.

Tabla 2. Efectos de la reducción de glucosa en el OGTT.

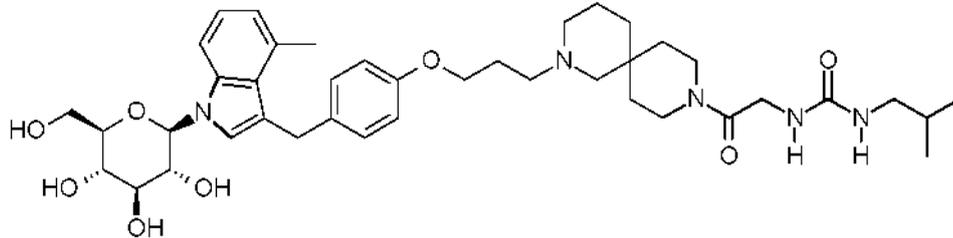
Media ± SEM de los resultados del ensayo de tolerancia a la glucosa oral				
Ensayo de ANOVA unidireccional/de Dunnett en comparación con el vehículo **p<0,01				
	Vehículo a las 8 h después de la dosis	Ejemplo 1 10 mg/kg a las 8 horas después de la dosis	Vehículo a las 18 h después de la dosis	Ejemplo 1 10 mg/kg a las 18 horas después de la dosis
Glucosa (mg/dl)				
Minuto 0	83,3 ± 5,10	75,8 ± 2,48	79 ± 1,17	79,2 ± 4,51
Minuto 20	203,4 ± 23,3	114 ± 3,36**	257,8 ± 19,1	121,4 ± 5,16**
Minuto 40	168,5 ± 6,58	131 ± 6,81**	202,8 ± 5,38	127 ± 9,78**
Minuto 60	142,6 ± 5,58	125,8 ± 7,52	154,7 ± 5,32	125 ± 7,27**
ABC ajustado de referencia	4699 ± 602	2370 ± 315**	6809 ± 419	2258 ± 252**
Glucosa (mg/dl)				
Cmáx de glucosa	205,7 ± 22,2	132,9 ± 6,68**	261,1 ± 16,3	134,2 ± 6,72**
Tiempo (minutos)				
Tmáx de glucosa	28 ± 4,9	44 ± 7,48	24 ± 4	44 ± 7,48

Tal como se muestra en la Tabla 1, el compuesto del Ejemplo 1 produce una disminución en la excursión de glucosa cuando se administra un bolo oral de dextrosa al 50 % (Hospira®) a un ratón C57B1/6 glucémico normal ocho o dieciocho horas después de la administración. El Ejemplo 1 también demuestra una disminución en el área bajo la curva (ABC) de glucosa ajustado de referencia durante ambos OGTT. Además, el Ejemplo 1 disminuye la concentración máxima promedio de glucosa en plasma (Cmáx) durante los OGTT, mientras que aumenta el tiempo promedio que tarda la glucosa en alcanzar la concentración máxima (Tmáx).

5

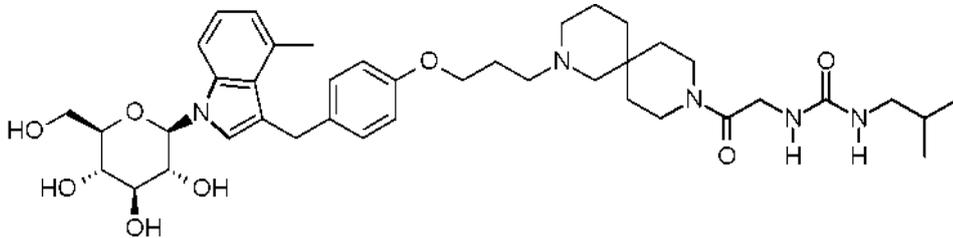
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 2. El compuesto según la reivindicación 1, que es:



3. Un compuesto o sal según cualquiera de la reivindicación 1 o reivindicación 2 para su uso en terapia.

4. Un compuesto o sal según cualquiera de la reivindicación 1 o reivindicación 2 para su uso en el tratamiento de la diabetes.

10 5. Un compuesto o sal para su uso según la reivindicación 4, en el que la diabetes es diabetes de tipo 1.

6. Un compuesto o sal para su uso según la reivindicación 4, en el que la diabetes es diabetes de tipo 2.

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal según cualquiera de la reivindicación 1 o reivindicación 2 con uno o más transportadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.