

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 596**

51 Int. Cl.:

A61P 9/00 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
C07D 403/14 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2021** **PCT/US2021/016742**
87 Fecha y número de publicación internacional: **19.08.2021** **WO21162943**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2021** **E 21709537 (1)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.01.2024** **EP 4103280**

54 Título: **Compuestos de 2-[2-metilazetidin-1-il]-4-fenil-6-(trifluorometil)-pirimidina**

30 Prioridad:

13.02.2020 US 202062975856 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.07.2024

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46206-6288, US

72 Inventor/es:

DURHAM, TIMOTHY BARRETT;
HAO, JUNLIANG y
JOHNSTON, RICHARD DUANE

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 975 596 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 2-[2-metilazetidin-1-il]-4-fenil-6-(trifluorometil)-pirimidina

La presente invención se refiere a nuevos compuestos inhibidores de la cetohehexocinasa ("ketohehexokinase", KHK), a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y al uso de los compuestos para el tratamiento de determinadas afecciones, tales como la diabetes mellitus de tipo 2 (DMT2), la insuficiencia cardíaca, la enfermedad renal diabética y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

La KHK, también denominada fructoquinasa, es la enzima limitante de la velocidad del metabolismo de la fructosa. Cataliza la fosforilación de la fructosa a fructosa-1-fosfato (F1P), provocando el agotamiento concomitante de los niveles de ATP celular. A diferencia de la glucosa, el metabolismo de la fructosa carece de inhibición por retroalimentación y desencadena la acumulación de intermedios en sentido descendente que intervienen, por ejemplo, en la lipogénesis, la gluconeogénesis y la fosforilación oxidativa (Hannou, S.A., *et al.*, J. Clin. Invest., 128(2), 544-555, 2018). Esto tiene consecuencias metabólicas negativas que se asocian a una serie de trastornos metabólicos graves.

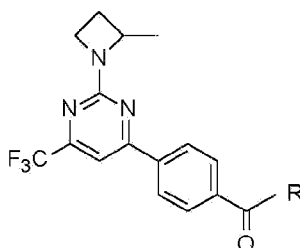
La KHK existe en dos isoformas cortadas y empalmadas de forma alternativa que consisten en la KHK-C y la KHK-A que difieren en el exón 3. La KHK-C se expresa principalmente en el hígado, el riñón y el intestino, mientras que la KHK-A es más ubicua. Los ratones deficientes en ambas isoformas están totalmente protegidos del síndrome metabólico inducido por la fructosa. Sin embargo, los efectos metabólicos adversos se exacerbaban en ratones que carecen únicamente de KHK-A (Ishimoto T, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 109(11), 4320-4325, 2012).

Varios estudios epidemiológicos y experimentales han notificado que el aumento del consumo de fructosa y, más concretamente, el aumento del metabolismo de la fructosa, puede desempeñar un papel importante en el desarrollo de determinados trastornos, incluido el síndrome metabólico y, en concreto, en el desarrollo de la DMT2 (Softic *et al.*, J. Clin. Invest., 127(11), 4059-4074, 2017), la insuficiencia cardíaca (Mirtschink, P., *et al.*, Eur. Heart J., 39, 2497-2505, 2018), la enfermedad renal diabética (Cirillo, P., *et al.*, J. Am. Soc. Nephrol., 20, 545-553, 2009) y la EHNA/EHNA (Vos, M.B., *et al.*, Hepatology, 57, 2525-2531, 2013). Se prevé que la inhibición de la KHK limite el metabolismo de la fructosa y ofrezca opciones terapéuticas eficaces para diversos trastornos metabólicos.

El documento US 2017/0183328 A1 divulga 3-azabicyclo[3.1.0]hexanos sustituidos como inhibidores de KHK. Datos publicados recientemente demuestran que el inhibidor de la cetohehexocinasa PF-06835919 administrado durante 6 semanas reduce la grasa total del hígado medida mediante la densidad de la fracción grasa por resonancia magnética de protón en sujetos con enfermedad de hígado graso no alcohólico (J. Hepatology. resúmenes del EASL International Liver Congress, suplemento n.º 1S, vol. 70, abril de 2019).

Existe la necesidad de tratamientos alternativos para el síndrome metabólico y las indicaciones asociadas que incluyen la DMT2, la insuficiencia cardíaca, la enfermedad renal diabética y la EHNA. En concreto, se necesitan compuestos que sean inhibidores potentes de la KHK. Se necesitan compuestos inhibidores de la KHK que tengan propiedades ventajosas, por ejemplo, una buena biodisponibilidad oral que permita una administración diaria.

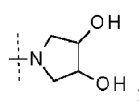
Por consiguiente, en una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:



Fórmula I

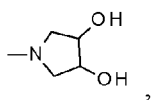
en la que:

R es -OH, -NHC(CH₂OH)₃ o



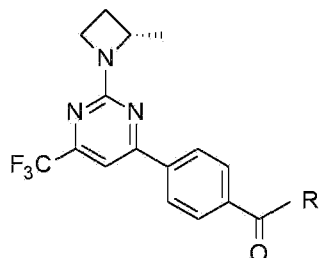
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización concreto, cuando R es:



, los grupos -OH están en la configuración cis entre sí.

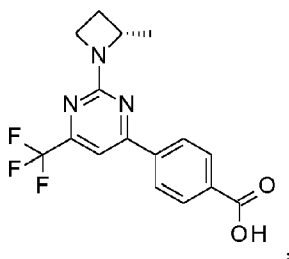
En una realización concreta, el compuesto tiene la fórmula Ia:



Fórmula Ia;

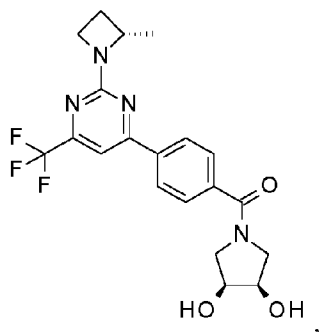
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto de fórmula I es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

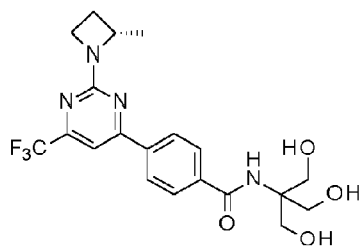
En una realización, el compuesto de fórmula I es:



10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto de fórmula I es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La fórmula I engloba las fórmulas Ia e Ib, y la referencia a la fórmula I a continuación, por ejemplo, en los procedimientos de tratamiento y usos terapéuticos, se entiende también como una referencia a todas y cada una de estas subfórmulas.

- 5 También se divulga (pero no se reivindica) un procedimiento para tratar la DMT2 en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se divulga (pero no se reivindica) un procedimiento para tratar la insuficiencia cardíaca en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 También se divulga (pero no se reivindica) un procedimiento para tratar la enfermedad renal diabética en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15 También se divulga (pero no se reivindica) un procedimiento para tratar la EHNA en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 También se divulga (pero no se reivindica) un procedimiento para tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en síndrome metabólico, EHGNA, obesidad, complicaciones diabéticas, por ejemplo, retinopatía diabética, enfermedad cardiovascular, enfermedad arterial coronaria, enfermedad renal crónica y dislipidemia, en un paciente que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 25 Además, en una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia. En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la DMT2. En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la enfermedad renal diabética. En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de la EHNA. En una realización, la invención también proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del síndrome metabólico, EHGNA, obesidad, complicaciones diabéticas, por ejemplo, retinopatía diabética, enfermedad cardiovascular, enfermedad arterial coronaria, enfermedad renal crónica o dislipidemia.

- 35 Además, en una realización, esta invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar la DMT2. En una realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar la insuficiencia cardíaca. En una realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar la enfermedad renal diabética. En una realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar la EHNA. En una realización, la invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar el síndrome metabólico, EHGNA, obesidad, complicaciones diabéticas, por ejemplo, retinopatía diabética, enfermedad cardiovascular, enfermedad arterial coronaria, enfermedad renal crónica o dislipidemia.

- 45 En una realización, la invención proporciona además una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización, la invención proporciona además un proceso para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 50 Tal como se utilizan en el presente documento, el término "tratar" incluye frenar, ralentizar, detener o invertir la progresión o la gravedad de un síntoma o de un trastorno existente.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "paciente" se refiere a un mamífero. Preferentemente, el paciente es un ser humano.

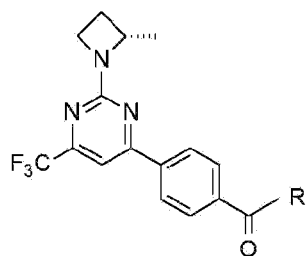
- 55 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o la dosis del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que, tras la administración de una dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente que está siendo diagnosticado o está en tratamiento.

Un experto en la materia puede determinar una cantidad eficaz utilizando técnicas conocidas y observando los resultados obtenidos en circunstancias análogas. A la hora de determinar la cantidad eficaz para un paciente, se tienen en cuenta una serie de factores, entre los que se incluyen la especie del paciente; su tamaño, edad y estado general de salud; la enfermedad o trastorno específico implicado; el grado, la implicación o la gravedad de la enfermedad o trastorno; la respuesta del paciente individual; el compuesto concreto administrado; el modo de administración; las características de biodisponibilidad del preparado administrado; la pauta posológica seleccionada; el uso de medicación concomitante; y otras circunstancias pertinentes. Los compuestos de la presente invención son eficaces a una dosis diaria comprendida entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal.

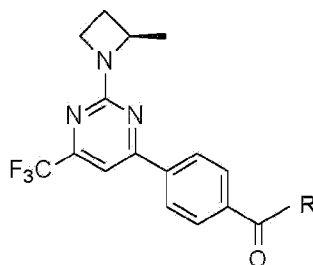
Los compuestos de la presente invención se formulan en forma de composiciones farmacéuticas administradas por cualquier vía que haga que el compuesto esté biodisponible. Preferentemente, dichas composiciones son para la administración oral. Dichas composiciones farmacéuticas y los procesos para prepararlas son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington, J. P., "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", L.V. Allen, editor, 22ª edición, Pharmaceutical Press, 2012).

Los compuestos de fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden utilizarse en los procedimientos de tratamiento (no reivindicados) y usos terapéuticos de la invención, prefiriéndose determinadas configuraciones. Se entenderá que las siguientes preferencias son aplicables tanto a los procedimientos de tratamiento como a los usos terapéuticos y a los compuestos de la invención.

Los compuestos de fórmula I incluyen:



Fórmula Ia;



Fórmula Ib;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Aunque la presente invención contempla todos los enantiómeros y diastereómeros individuales, así como las mezclas de dichos compuestos, incluidos los racematos, se prefieren especialmente los compuestos de fórmula Ia y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Un experto en la materia puede separar o resolver los enantiómeros individuales en cualquier punto conveniente de la síntesis de compuestos de fórmula I, por procedimientos tales como las técnicas de cristalización selectiva, la cromatografía quiral (véase, por ejemplo, J. Jacques, *et al.*, "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), o la cromatografía de fluidos supercríticos ("supercritical fluid chromatography", SFC) (véase, por ejemplo, T. A. Berger, "Supercritical Fluid Chromatography Primer", Agilent Technologies, julio de 2015).

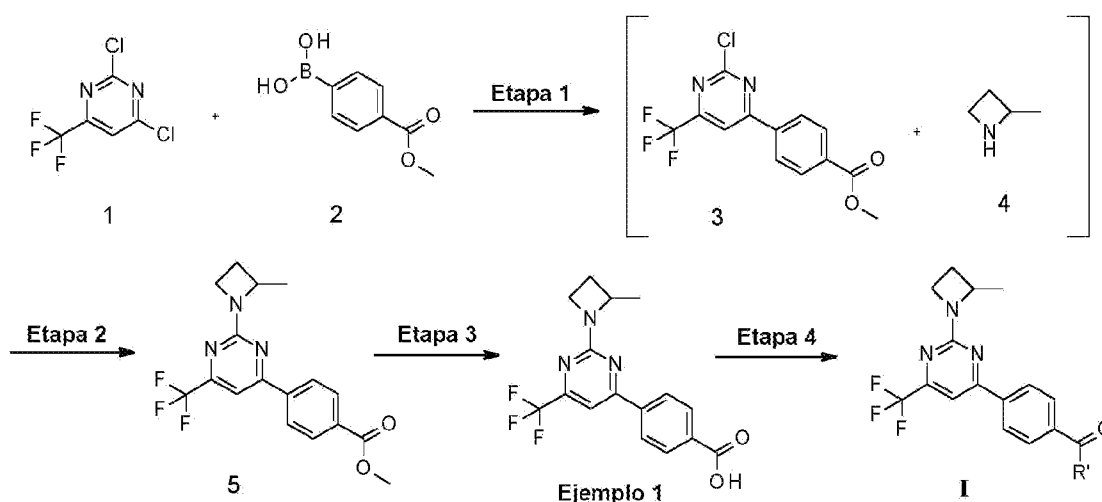
Una sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos de fórmula I puede formarse, por ejemplo, por reacción de una base libre adecuada de un compuesto de fórmula I y un ácido farmacéuticamente aceptable adecuado en un disolvente adecuado en condiciones convencionales bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Bastin, R.J., *et al.*, Org. Process. Res. Dev., 4, 427-435, 2000, y Berge, S.M., *et al.*, J. Pharm. Sci., 66, 1-19, 1977).

Los compuestos de fórmula I, o las sales de los mismos, pueden prepararse mediante una diversidad de procedimientos conocidos por un experto en la materia, algunos de los cuales se ilustran en los esquemas, las preparaciones y los ejemplos siguientes. Los productos de cada etapa de los esquemas siguientes pueden recuperarse por procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica, tales como extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración y cristalización. En los esquemas siguientes, todos los sustituyentes,

salvo que se indique lo contrario, son como se han definido anteriormente. Cualquier experto en la materia puede obtener con facilidad los reactivos y los materiales de partida. Sin limitar el alcance de la invención, los siguientes esquemas, preparaciones y ejemplos se proporcionan para ilustrar con más detalle la invención. Además, el experto en la materia apreciará que los compuestos de fórmula I pueden prepararse empleando un material de partida o intermedio con la correspondiente configuración estereoquímica que puede preparar el experto en la materia.

Algunas abreviaturas se definen como sigue: "ACN" significa acetonitrilo; "CDMT" significa 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina; "DCM" significa cloruro de metileno o diclorometano; "DIPEA" significa diisopropiletilamina; "DMEM" significa medio de Eagle modificado por Dulbecco; "DMF" significa N,N-dimetilformamida; "DMSO" significa dimetilsulfóxido; "ELSD" significa detector de dispersión de luz evaporativa; "ES/MS" significa espectrometría de masas por electronebulización; "EtOAc" significa acetato de etilo; "EtOH" significa etanol o alcohol etílico; "FBS" significa suero bovino fetal; "h" significa hora u horas; "HATU" significa 3-óxido hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio; "HPLC" significa cromatografía líquida de alto rendimiento; "Me" significa metilo; "MeOH" significa metanol; "MTBE" significa metil *tert*-butil éter; "min" significa minuto o minutos; "m/z" significa proporción masa a carga; "Ph" significa fenilo; "MFR" significa matraz de fondo redondo; "TA" significa temperatura ambiente; "SCX" significa intercambio catiónico selectivo; "ee" significa error estándar; "SFC" significa cromatografía de fluidos supercríticos; "TBTU" significa tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio; "TFA" significa ácido trifluoroacético; "THF" significa tetrahidrofurano.

Esquema 1



El esquema 1 representa la preparación general de los compuestos de fórmula I. Las etapas 1 y 2 se completan en un único reactor. En primer lugar, la 2,4-dicloro-6-(trifluorometil)pirimidina (1) se somete a un acoplamiento de Suzuki a temperatura ambiente con un catalizador de paladio, una base acuosa, tal como carbonato de sodio, y ácido (4-metoxycarbonilfenil)borónico (2) para obtener la cloropirimidina intermedia (3). A la mezcla de reacción de la etapa 1 se le añade 2-metilazetidina (4) o una sal de la misma y, a continuación, se calienta la reacción para obtener el éster intermedio (5) (etapa 2). En la etapa 3, el éster intermedio (5) se hidroliza con hidróxido de sodio a temperatura elevada para obtener el compuesto ácido del ejemplo 1. Por último, los compuestos alternativos de fórmula I se preparan acoplando el compuesto ácido del ejemplo 1 con la amina adecuada en la etapa 4. La etapa 4 puede realizarse utilizando HATU en DMF, EtOAc/DMF o ACN; TBTU en ACN; o CDMT en THF.

Preparaciones y ejemplos

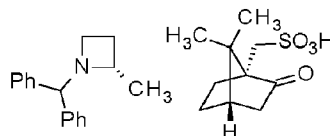
Las siguientes preparaciones y ejemplos ilustran con más detalle la invención y representan la síntesis habitual del compuesto de la invención. Los reactivos y los materiales de partida pueden obtenerse con facilidad o un experto en la materia puede sintetizarlos con facilidad. Debe entenderse que las preparaciones y los ejemplos se exponen a título ilustrativo y no limitativo, y que un experto en la materia puede realizar diversas modificaciones.

La LC-ES/MS se realiza en un sistema de cromatografía líquida AGILENT® HP1100. Las mediciones de espectrometría de masas por electronebulización (adquiridas en modo positivo y/o negativo) se realizan en un espectrómetro de masas cuadrupolar con detector selectivo de masas conectado a un HPLC que puede o no tener un ELSD. Condiciones de LC-MS (pH bajo): columna: PHENOMENEX® GEMINI® NX C18 2,0 × 50 mm, 3,0 µm, 110 Å; gradiente: B del 5-95 % en 1,5 min, luego B al 95 % durante 0,5 min; temperatura de la columna: 50 °C ±10 °C; caudal: 1,2 ml/min; volumen de inyección, 1 µl; disolvente A: agua desionizada con HCOOH al 0,1 %; disolvente B: ACN con ácido fórmico al 0,1 %; longitud de onda, 200-400 nm y 212-216 nm. Si el HPLC está equipado con un ELSD, los ajustes son 45 °C de temperatura del evaporador, 40 °C de temperatura del nebulizador y 1,6 de caudal de gas SLM. Condiciones de LC-MS alternativas (pH alto): columna: Columna Waters xBridge® C18 2,1×50 mm, 3,5 µm;

gradiente: B del 5-95 % en 1,5 min, después B al 95 % durante 0,50 min; temperatura de la columna: 50 °C +/-10 °C; caudal: 1,2 ml/min; volumen de inyección, 1 µl; disolvente A: NH₄HCO₃ 10 mM, pH 9; disolvente B: ACN; longitud de onda: 200-400 nm y 212-216nm; si tenía ELSD: 45 °C de temperatura del evaporador, 40 °C de temperatura del nebulizador y 1,60 de caudal de gas SLM.

5 Preparación 1

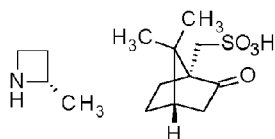
Sal de (2S)-1-benzhidril-2-metil-azetidina del ácido [(1R,4S)-7,7-dimetil-2-oxonorbornan-1-il]metanosulfónico



Montar un MFR de 3 cuellos de 2000 ml con un embudo de adición, una entrada de nitrógeno y un adaptador de termómetro. Purgar el recipiente con nitrógeno y añadir (3R)-butan-1,3-diol (25 g, 277,4 mmol), DIPEA (127 ml, 731 mmol) y ACN (556 ml). Enfriar hasta -30 °C. Añadir anhídrido trifluorometanosulfónico (101 ml, 601 mmol) gota a gota durante 3 h de forma que la temperatura interna se mantenga entre -35 y -30 °C. Una vez completada la adición, agitar durante 10 min de -35 a -30 °C. Añadir anhídrido trifluorometanosulfónico (1,9 ml, 11 mmol) gota a gota durante 5 min, de forma que la temperatura interna se mantenga entre -35 y -30 °C. Una vez completada la adición, agitar durante 10 min de -35 a -30 °C. Añadir DIPEA (127 ml, 731 mmol) gota a gota durante 15 min, de forma que la temperatura interna se mantenga entre -35 y -30 °C. Una vez completada la adición, agitar durante 10 min de -35 a -30 °C. En un matraz distinto en una atmósfera de nitrógeno, disolver aminodifenilmetano (48,0 ml, 270 mmol) en ACN (49 ml, 935 mmol) y trasladar la disolución resultante al embudo de adición. Añadir la solución de amina al triflato frío gota a gota durante 40 min, de forma que la temperatura interna se mantenga entre -20 y -35 °C. Una vez completada la adición, agitar durante 30 min de -35 a -30 °C. Pasar la reacción a un baño de agua y dejar que se caliente lentamente durante 30 min. Retirar el baño y dejar que la reacción se caliente hasta la temperatura ambiente durante 30 minutos. Trasladar el recipiente a un manto calefactor y calentar la reacción hasta 45 °C durante 30 min y después enfriar hasta la temperatura ambiente. Verter la mezcla resultante en 1200 ml de agua y extraer con tolueno (400 ml x 3). Reunir los extractos, lavar con agua, una solución acuosa saturada de NaCl, secar sobre Na₂SO₄ anhidro, filtrar y concentrar en un rotavapor. Secar el material al vacío durante toda la noche. Disolver el residuo en DCM (400 ml). Preparar un lecho corto de sílice en un embudo fritado y equilibrarlo con heptano/EtOAc 1:1. Cargar la solución de producto sobre el lecho corto de sílice y lavar con 1600 ml de heptano/EtOAc 1:1. Concentrar el filtrado para obtener un aceite rojo. Disolver el aceite en MeOH (250 ml) y colocar el matraz en un baño de agua (aproximadamente 10 °C). Añadir ácido L(-)-alcanforsulfónico (61,6 g, 265 mmol) por partes manteniendo la temperatura interna por debajo de 20 °C. Agitar la mezcla resultante durante 15 minutos y concentrar en un rotavapor para obtener una espuma marrón. Secar la espuma en una bomba de vacío durante 2 h. Disolver la espuma en 130 ml de DCM. Colocar un embudo de adición en el matraz. Utilizar el embudo para añadir lentamente 1100 ml de EtOAc a la disolución en agitación. Trasladar la mezcla resultante a un vaso de precipitados de 4000 ml y agitar con exposición a la atmósfera durante toda la noche. Enfriar el vaso de precipitados en un baño de hielo durante 10 minutos. Recoger el precipitado en un embudo fritado por filtración al vacío lavando con una cantidad mínima de EtOAc helado. Secar el sólido sobre la frita durante 2 h. Disolver el sólido blanco resultante en una cantidad mínima de DCM, trasladar a un vaso de precipitados de 2000 ml y diluir lentamente con EtOAc hasta que la solución transparente empiece a enturbiarse. Agitar la suspensión durante 4 h con exposición a la atmósfera. Recoger los sólidos por filtración al vacío utilizando un embudo fritado y secar sobre la frita durante la noche para obtener el compuesto del título (111,8 g, 238,06 mmol, 86 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. RMN de ¹H (400 MHz, d₆-DMSO): 10,54-10,47 (m, 1H), 7,61 (d, J = 7,3 Hz, 5H), 7,47-7,37 (m, 7H), 5,85 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 4,68-4,61 (m, 1H), 3,91-3,83 (m, 2H), 3,37 (s, 8H), 2,99 (d, J = 14,6 Hz, 1H), 2,77-2,68 (m, 1H), 2,51-2,44 (m, 4H), 2,30-2,16 (m, 2H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,42-1,28 (m, 3H), 1,08 (s, 3H), 1,01 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,77 (s, 4H); >98 % ee [HPLC: Chiralcel OJ (10 cm x 4,6 mm, 5 µm), 5 ml/min, 40 °C isocrático EtOH al 10 % (iPrNH₂ al 0,2 %)/CO₂].

Preparación 2

Sal de (2S)-2-metilazetidina-1-ilo de [(1R,4S)-7,7-dimetil-2-oxonorbornan-1-il]metanosulfonato

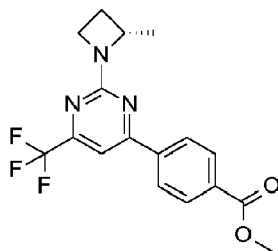


A un recipiente Parr de 2250 ml añadir Pd(OH)₂ al 20 % en peso sobre carbono (6,62 g). Purgar la botella con nitrógeno y añadir 250 ml de MeOH. A la suspensión resultante, añadir lentamente sal de (2S)-1-benzhidril-2-metil-azetidina del ácido [(1R,4S)-7,7-dimetil-2-oxonorbornan-1-il]metanosulfónico (111 g, 236 mmol) disuelta en 250 ml de MeOH. Cerrar herméticamente el recipiente. Purgar con nitrógeno, seguido de hidrógeno, y presurizar hasta 413,68 kPa (60 psi). Agitar enérgicamente el recipiente de reacción en un aparato Parr Shaker durante 15 h a temperatura ambiente. Purgar

el recipiente con nitrógeno y filtrar la mezcla de reacción a través de un lecho corto de Celite®, lavando con MeOH. Concentrar el filtrado para obtener un sólido blanco y secar al vacío. Suspender el sólido en 780 ml de MTBE/EtOAc 1:1 y calentar la mezcla hasta 65 °C durante 20 h, después enfriar hasta la temperatura ambiente y agitar durante toda la noche. Recoger los sólidos por filtración. Suspender los sólidos en 380 ml de MTBE y agitar a temperatura ambiente durante 24 h. Recoger el sólido blanco por filtración para obtener el compuesto del título (41,5 g, 136,78 mmol, 58 % de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, d6-DMSO): 8,68-8,55 (m, 1H), 4,51-4,42 (m, 1H), 3,91-3,75 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 2,91 (d, J = 14,6 Hz, 1H), 2,69-2,61 (m, 1H), 2,52-2,46 (m, 2H), 2,28-2,22 (m, 1H), 2,17-2,10 (m, 1H), 1,96 (t, J = 4,5 Hz, 1H), 1,89-1,79 (m, 1H), 1,43 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 1,36-1,26 (m, 1H), 1,05 (s, 2H), 0,75 (s, 2H).

Preparación 3

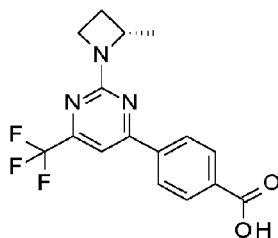
4-{2-[(2S)-2-Metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoato de metilo



En un MFR de 3 cuellos de 2 l en una atmósfera de nitrógeno, reunir 2,4-dicloro-6-(trifluorometil)pirimidina (25,00 g, 112,9 mmol), ácido (4-metoxycarbonilfenil)borónico (21,34 g, 118,6 mmol), carbonato de sodio acuoso (2 M, 170 ml, 340 mmol) y 1,4-dioxano (500 ml). Agitar a temperatura ambiente y burbujear nitrógeno en la mezcla durante 10 min. Añadir porciones de dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (1,585 g, 2,258 mmol). Agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 23 h. A la suspensión, añadir sal de (2S)-2-metilazetidín-1-ilo de [(1R,4S)-7,7-dimetil-2-oxonorbornan-1-il]metanosulfonato (35,97 g, 118,6 mmol). Calentar la suspensión hasta 75 °C durante 1 h. Retirar la fuente de calor y añadir agua (500 ml) mediante un embudo de adición durante 10 min. Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente y aislar el sólido amarillo por filtración. Secar el material en un horno de vacío a 45 °C para obtener el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (41,75 g, rendimiento cuantitativo). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,35-8,32 (m, 2H), 8,11-8,08 (m, 2H), 7,66 (s, 1H), 4,64-4,57 (m, 1H), 4,16-4,06 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 2,52-2,45 (m, 1H), 2,06-2,00 (m, 1H), 1,54 (d, J = 4,2 Hz, 3H); ES/MS *m/z* 352 (M+H).

Ejemplo 1

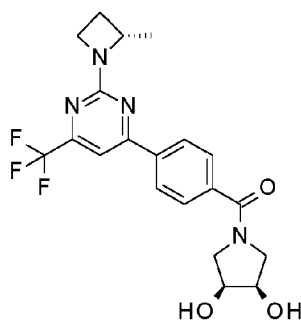
Ácido 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoico



En un MFR de 2 l en una atmósfera de nitrógeno, reunir cuidadosamente 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoato de metilo (41,80 g, 115,4 mmol), hidróxido de sodio acuoso (2 M, 173,1 ml, 346 mmol), MeOH (418 ml) y THF (209 ml). Calentar lentamente la mezcla resultante hasta 75 °C y agitar durante 2 h, después enfriar hasta la temperatura ambiente. Eliminar los disolventes orgánicos al vacío. Añadir agua (400 ml) y EtOAc (300 ml). Filtrar la mezcla resultante a través de un lecho corto de Celite® mediante filtración al vacío. Separar la capa orgánica. Lavar la capa acuosa básica con más EtOAc (300 ml). Acidificar la capa acuosa hasta pH = 5 utilizando HCl 2 M. Extraer con EtOAc (3 × 300 ml). Reunir los extractos orgánicos, secar sobre sulfato de sodio, filtrar y concentrar. Secar el residuo al vacío y disolverlo en THF (750 ml) y añadir resina SiliaMetS® Thiol (Si-Thiol) (2,5 g). Agitar la mezcla resultante a 40 °C durante 6 h, enfriar hasta la temperatura ambiente y filtrar. Concentrar el filtrado para obtener un sólido. Combinarlo con el material preparado utilizando fundamentalmente el mismo procedimiento descrito anteriormente, comenzando con 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoato de metilo (7,95 g, 21,5 mmol). Agitar el material reunido en una solución 10:1 (v/v) de heptano:EtOAc durante 1 h. Recoger el sólido por filtración, lavar con heptano y secar al vacío para obtener el compuesto del título (34,8 g, 75 %). ES/MS *m/z* 338 (M+H), 336 (M-H).

Ejemplo 2

[(3R,4S)-3,4-Dihidroxipirrolidin-1-il]-[4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}fenil]metanona



Etapa 1 - Acoplamiento

Procedimiento de acoplamiento A:

- 5 Cargar un MFR en una atmósfera de nitrógeno con ácido 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoico (10 g, 29,1 mmol), clorhidrato de (3R,4S)-pirrolidín-3,4-diol (4,39 g, 30,5 mmol) y DMF (39,2 ml). Añadir DIPEA (12,1 ml, 69,7 mmol) lentamente. Enfriar la mezcla resultante hasta 3 °C y añadir HATU (16,6 g, 43,6 mmol) durante 5 min mientras se agita. Agitar durante 90 min. Repartir la reacción resultante entre fosfato de potasio dibásico acuoso (2 M, 100 ml) y EtOAc (100 ml). Separar la fase orgánica. Extraer la fase acuosa con EtOAc (100 ml). Combinar las fases orgánicas y lavar con cloruro de litio acuoso (al 10 % en masa, 200 ml × 3), y se concentran para obtener el compuesto del título bruto (21,4 g) en forma de una espuma amarilla.

Procedimiento de acoplamiento B:

- 15 Llevar a cabo el procedimiento de acoplamiento fundamentalmente como se describe en el procedimiento de acoplamiento A con las siguientes excepciones: comenzando con ácido 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoico (2,10 g, 6,10 mmol), omitir el uso de EtOAc como disolvente de la reacción y utilizar sólo DMF (21 ml), y procesar la reacción por reparto entre cloruro de litio acuoso (al 10 % en masa, 42 ml) y EtOAc (21 ml) en lugar de fosfato de potasio dibásico acuoso (2 M) y EtOAc. Obtener el compuesto del título bruto (2,67 g) en forma de una espuma amarilla.

Procedimiento de acoplamiento C:

- 20 A una mezcla a 4 °C de ácido 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoico (1,03 g, 2,99 mmol) y CDMT (0,696 g, 3,88 mmol) en THF (18 ml) en una atmósfera de nitrógeno, añadir 4-metilmorfolina (0,453 g, 0,494 ml, 4,48 mmol) gota a gota. Agitar la mezcla durante 30 min a temperatura ambiente y añadir gota a gota una suspensión de clorhidrato de (3R,4S)-pirrolidina-3,4-diol (0,451 g, 3,14 mmol), THF (6 ml), trietilamina (0,907 g, 1,25 ml, 8,96 mmol) y 4-metilmorfolina (0,453 g, 0,494 ml, 4,48 mmol) preparada previamente agitando a temperatura ambiente. Agitar la mezcla resultante a 4 °C. Después de 1 h, añadir más clorhidrato de (3R,4S)-pirrolidina-3,4-diol (0,043 g, 0,299 mmol) y calentar la mezcla hasta la temperatura ambiente. Después de 2 h, filtrar la mezcla de reacción a presión reducida utilizando un embudo sinterizado (tamaño de poro de 3 Å). Eliminar los volátiles al vacío y secar el residuo en una corriente de aire durante 30 min y a vacío elevado durante la noche. Repartir el residuo entre NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml) y EtOAc (20 ml). Lavar de nuevo la fase orgánica con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml), dejando que las fases se resuelven durante la noche. Secar la capa orgánica con MgSO₄, filtrar y eliminar todos los volátiles a presión reducida para obtener el compuesto del título bruto (1,44 g) en forma de un aceite amarillo transparente.

Procedimiento de acoplamiento D:

- 35 Cargar un MFR en una atmósfera de nitrógeno con ácido 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoico (1,99 g, 5,79 mmol) y ACN (16 ml), clorhidrato de (3R,4S)-pirrolidina-3,4-diol (0,875 g, 6,08 mmol) y ACN (16 ml), y después añadir DIPEA (2,25 g, 3,01 ml, 17,4 mmol) suavemente. Agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 5 min y añadir HATU (2,64 g, 6,95 mmol). Tras agitar durante 25 min, eliminar todos los volátiles a presión reducida. Diluir el residuo con acetato de isopropilo (20 ml) y extraer con HCl acuoso (1 M, 20 ml × 2), agua (20 ml), carbonato de sodio acuoso (1 M, 20 ml) y agua (20 ml). Secar la capa orgánica con MgSO₄, filtrar y eliminar todos los volátiles a presión reducida. Disolver este material en MeTHF (18 ml) y lavar con NaOH acuoso (1 M, 18 ml). Secar la capa orgánica con MgSO₄, filtrar y eliminar todos los volátiles a presión reducida para obtener el compuesto del título bruto (1,53 g) en forma de una espuma amarilla.

Procedimiento de acoplamiento E:

- 45 Cargar un MFR en una atmósfera de nitrógeno con ácido 4-{2-[(2S)-2-metilazetidín-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidín-4-il}benzoico (8,61 g, 25,0 mmol), clorhidrato de (3R,4S)-pirrolidín-3,4-diol (3,8 g, 26,2 mmol) y ACN (71 ml). Añadir DIPEA (13 ml, 75 mmol) lentamente. Mientras se agita la mezcla resultante, añadir TBTU (9,0 g, 27,5 mmol). Agitar durante 6 min. Eliminar todos los volátiles al vacío. Disolver el residuo en 2-metiltetrahidrofurano (86 ml) y lavar con

ácido clorhídrico (1 M, 86 ml × 2), hidróxido de sodio (1 M, 86 ml × 2) y cloruro de litio (al 10 % en masa, 86 ml). Secar la fase orgánica sobre MgSO₄, filtrar y concentrar. Disolver el residuo en EtOAc (43 ml) y concentrar hasta sequedad dos veces para obtener el compuesto del título bruto (10,3 g) en forma de una espuma amarilla.

- 5 Preparar lotes separados del compuesto del título bruto utilizando las cantidades de material de partida y los procedimientos de acoplamiento que se muestran en la tabla 1. El material de partida mencionado en la tabla 1 es el ácido 4-{2-[(2S)-2-metilazetidin-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidin-4-il}benzoico.

Tabla 1

Número de lote del producto bruto	Cantidad de material de partida utilizado (g)	Cantidad de material de partida utilizado (mmol)	Procedimiento de acoplamiento utilizado
1	0,202	0,570	C
2	0,104	0,300	B
3	2,10	6,10	B
4	1,02	2,95	A
5	1,03	2,99	C
6	10	29,1	A
7	2,02	5,88	A
8	1,99	5,79	D
9	0,104	0,302	E
10	2,00	5,80	E
11	2,04	5,92	E
12	1,03	2,99	D
13	1,03	2,99	A
14	1,05	3,06	E
15	8,61	25,0	E

Etapa 2 - Purificación

10 Procedimiento de purificación A:

- Combinar los lotes 1-6 y purificar el producto bruto combinado mediante cromatografía en gel de sílice utilizando un gradiente de EtOH del 0 al 3 % en EtOAc para obtener una espuma amarilla. Disolver este material en EtOAc (300 ml) y lavar con cloruro de litio (al 10 % en masa) en agua (372 ml) tres veces. Secar la fase orgánica sobre MgSO₄, filtrar y concentrar al vacío para obtener un sólido amarillo. Triturar el sólido en heptano (177 ml) durante 2 h, filtrar, secar al aire y secar al vacío durante la noche para obtener el compuesto del título (14,65 g, 82 % de rendimiento global de las etapas de acoplamiento y purificación) en forma de un sólido amarillo.

15

Procedimiento de purificación B:

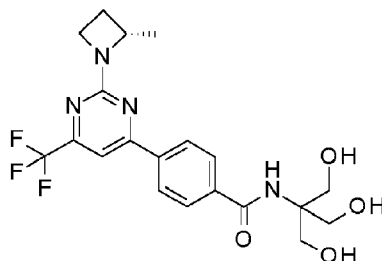
- Reunir los lotes 7-15 y purificar el producto bruto reunido mediante cromatografía en gel de sílice utilizando un gradiente de EtOH del 0 al 10 % en EtOAc para obtener una espuma amarilla. Triturar este material en una mezcla de acetona al 5 %/heptano (165 ml) a 60 °C durante 30 min y después a temperatura ambiente durante 6 h. Filtrar a presión reducida, secar en una corriente de aire durante 30 min y después a vacío elevado para obtener el compuesto

20

del título (15,8 g, 64 % de rendimiento global de las etapas de acoplamiento y purificación) en forma de un polvo blanco cristalino.

Ejemplo 3

N-[2-Hidroxi-1,1-bis(hidroximetil)etil]-4-{2-[(2S)-2-metilazetidin-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidin-4-il}benzamida



5

10

Disolver ácido 4{2-[(2S)-2-metilazetidin-1-il]-6-(trifluorometil)pirimidin-4-il}benzoico (700 mg, 2,08 mmol) en DMF (10 ml) en un vial. Añadir 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol (280 mg, 2,31 mmol), HATU (1,21 g, 1,21 g) y DIPEA (1,1 ml, 6,3 mmol). Cerrar herméticamente el vial y agitar a temperatura ambiente durante 1 h. Diluir la mezcla con EtOAc, lavar dos veces con agua y luego con NaCl acuoso saturado. Secar la capa orgánica sobre Na₂SO₄, filtrar y concentrar. Purificar el material resultante mediante cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de MeOH del 0 al 10 % en CH₂Cl₂, seguido de cromatografía en fase inversa usando un gradiente de ACN del 10 al 100 % (que contenía TFA al 0,1 %) en agua (que contenía TFA al 0,1 %) para obtener el compuesto del título (287 mg, 31 %). ES/MS *m/z* 441 (M+H), 439 (M-H).

Ensayos

15

Ensayo de la actividad enzimática de la KHK para la KHK-C humana y la KHK-A humana

20

25

La potencia intrínseca para la inhibición de la actividad KHK C o A puede medirse utilizando un ensayo enzimático que mida la producción de F1P. Los compuestos se preparan en DMSO y se ensayan en una curva de concentración de 10 puntos para crear diluciones seriadas triplicadas de los compuestos en una placa de 96 pocillos que van de 20 µM a 1,02 nM. La enzima se prepara en tampón de ensayo [ácido 4-(2-hidroxietil)piperazin-1-etanosulfónico (HEPES) 50 mM, cloruro de potasio 10 mM, cloruro de magnesio 100 mM, tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) 2 mM, n-octilglucósido al 0,01 %] y se incuba con los compuestos a temperatura ambiente durante 15 min. La reacción se lleva a cabo en volúmenes de 100 µl que contenían concentraciones de sustrato de fructosa (250 µM para el ensayo de KHK-C y 1,25 mM para el ensayo de KHK-A) y ATP (150 µM para ambas isoformas), que se incuban además a temperatura ambiente durante 20 min. A continuación, se interrumpe la reacción añadiendo un tampón de interrupción compuesto por ácido fórmico al 0,2 % y patrón interno ¹³C₆-fructosa-6-fosfato (¹³C₆-F6P) 1 µg/ml. Las placas se almacenan a -20 °C hasta el análisis RapidFire MS.

Análisis RapidFire MS para la cuantificación de F1P

30

Un sistema de extracción automatizado Agilent 300 RapidFire (Agilent, Santa Clara, CA) con tres bombas cuaternarias de HPLC se acopla a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Agilent 6495 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) equipado con una fuente de interfaz de ionización por electronebulización (ESI). El sistema RapidFire Mass Spec está equipado con un cartucho de extracción en fase sólida (SPE) RapidFire C18 (tipo C) reutilizable (G9205A).

35

El disolvente A, utilizado para la carga y el lavado de la muestra, es octilamina 6 mM (Acros Organics 129495000) llevada a pH 5,0 utilizando ácido acético. El disolvente B, utilizado para la elución de la muestra, es un agua al 20 % en ACN que contiene ácido fórmico al 0,1 %. Las muestras se analizan secuencialmente aspirando 10 µl en el bucle de recogida al vacío directamente desde las placas multipocillo. Los 10 µl de muestra se cargan en el cartucho C18 y se lavan con disolvente A con un caudal de 1,25 ml/min durante 5000 ms. A continuación, los analitos retenidos se eluyen al espectrómetro de masas utilizando el disolvente B con un caudal de 1,25 ml/min durante 5000 ms. El sistema se reequilibra utilizando el disolvente A con un caudal de 1,25 ml/min durante 2000 ms.

40

El espectrómetro de masas de triple cuadrupolo está equipado con una fuente de ESI y los analitos se controlan utilizando el seguimiento de la reacción seleccionada ("selected reaction monitoring", SRM) en modo negativo [M-H]⁻. El F1P se controla a *m/z* 259,02/96,9 y el ¹³C₆-fructosa-6-fosfato se controla a *m/z* 264,99/97. Los valores de proporción de superficie para F1P se calculan utilizando ¹³C₆-fructosa-6-fosfato como patrón interno.

Los compuestos de los ejemplos 1 a 3 se ensayaron fundamentalmente como se ha descrito anteriormente:

Tabla 2

Número de ejemplo	hKHK-C Cl_{50} (nM)	hKHK-A Cl_{50} (nM)
1	22,6 (ee = 13,8, n = 4)	21,5 (ee = 16,3, n = 4)
2	23,1 (ee = 16,8, n = 3)	12,7 (ee = 9,68, n = 3)
3	29,7 (ee = 7,53, n = 4)	23,4 (ee = 2,29, n = 5)

Los resultados mostrados en la tabla 2 demuestran que los compuestos de los ejemplos 1 a 3 inhiben la actividad enzimática tanto de la KHK-C como de la KHK-A.

Ensayo de actividad celular de KHK

- 5 La potencia puede medirse utilizando un ensayo celular para la inhibición de la conversión de fructosa en F1P por la KHK celular. Se cultivan células hepáticas HepG2 en placas de cultivo celular de 96 pocillos en un medio de crecimiento [medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con alto contenido en glucosa, suero bovino fetal inactivado por calor AL 10 % ("heat-inactivated fetal bovine serum", HI FBS), 1 × penicilina/estreptomicina] y se deja que se fijen durante la noche en una incubadora a 37 °C. El medio de crecimiento se lava y se sustituye por medio de ensayo que consiste en medio de suero reducido Gibco OptiMEM 1, caseína al 0,1 %, D-fructosa- $^{13}C_6$ 8,33 mM, y concentraciones de compuestos que oscilan entre 100 μ M y 0,0051 μ M (curva de concentración de 10 puntos). Las placas se incuban a 37 °C durante 3 h, tras lo cual se aspira el medio de ensayo de los pocillos de células. A continuación, se añade a las células una solución de interrupción compuesta por MeOH al 80 %, acetato de amonio 2 mM y D-fructosa- $^{13}C_6$ 50 ng/ml. Las placas se almacenan a -20°C hasta el análisis RapidFire MS (descrito anteriormente).

Los compuestos de los ejemplos 1 a 3 se ensayaron fundamentalmente como se ha descrito anteriormente:

Tabla 3

Número de ejemplo	HepG2 Cl_{50} (nM)
1	911 (ee = 150, n = 3)
2	186 (ee = 14,8, n = 3)
3	82,1 (ee = 6,24, n = 5)

- 20 Los resultados mostrados en la tabla 3 demuestran que los compuestos de los ejemplos 1 a 3 inhiben el metabolismo de la fructosa a F1P en células HepG2.

- 25 Procedimiento de cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para ensayos farmacocinéticos: Las muestras se extraen utilizando una precipitación de proteínas añadiendo 180 μ l de MeOH:ACN (1:1, v/v) que contenía un patrón interno a 50 μ l de plasma. A continuación, las muestras se diluyen con MeOH:agua (1:1, v/v) para obtener concentraciones dentro del intervalo de la curva patrón. Las muestras diluidas se analizan por LC-MS/MS utilizando un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Sciex API 4000 (Applied Biosystems/MDS; Foster City, CA) equipado con una interfaz TurbolonSpray y ejecutado en modo de iones positivos. Los analitos se separan cromatográficamente utilizando una columna ECHELON C18 4 μ m, 20 X 2,1 mm. Las condiciones de LC son agua/bicarbonato de amonio 1 M (2000:10, v/v) (fase móvil A), y MeOH/bicarbonato de amonio 1 M (2000:10, v/v) (fase móvil B).

- 30 Farmacocinética en ratas Sprague Dawley

- 35 Las propiedades farmacocinéticas *in vivo* del ejemplo 2 y del ejemplo 3 se demuestran utilizando Ratas Sprague Dawley (en ayunas; n = 3/vía de dosis). El compuesto se administra mediante una única dosis oral (p.o.; 3 mg/kg; volumen de 10 ml/kg) o intravenosa (i.v.; 1 mg/kg; volumen de 1 ml/kg) en vehículo. Se extrae sangre de cada animal en varios momentos entre 0 y 24 horas después de la administración. Las concentraciones plasmáticas del ejemplo 2 y del ejemplo 3 se determinan mediante un procedimiento LC-MS/MS como el descrito anteriormente.

Para el ejemplo 2, la biodisponibilidad es del 65 %, mientras que la dosis i.v. presentó una semivida media de 6,42 horas y un aclaramiento medio de 5,57 ml/min/kg. Para el ejemplo 3, la biodisponibilidad es del 69 %, mientras que la dosis i.v. presentó una semivida media de 2,95 horas y un aclaramiento medio de 12,7 ml/min/kg. Estos datos

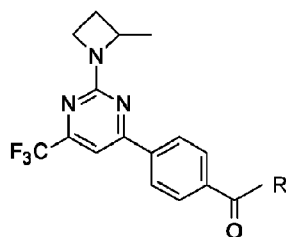
demuestran que los ejemplos 2 y 3 presentan un aclaramiento total bajo en la rata, lo que sugiere una extracción mínima de primer paso, una elevada biodisponibilidad oral y una eliminación prolongada evidenciada por una semivida media adecuada.

Farmacocinética en perros

- 5 Las propiedades farmacocinéticas *in vivo* del ejemplo 2 y del ejemplo 3 se demuestran utilizando perros Beagle (alimentados, n = 3). El compuesto se administra mediante una única dosis oral (p.o.; 2 mg/kg; volumen de 2 ml/kg) o intravenosa (i.v.; 1 mg/kg; volumen de 1 ml/kg) en vehículo. Se extrae sangre de cada animal en varios momentos entre 0 y 24 horas después de la administración. Las concentraciones plasmáticas del ejemplo 2 y del ejemplo 3 se determinan mediante un procedimiento LC-MS/MS como el descrito anteriormente.
- 10 Para el ejemplo 2, la dosis i.v. presentó una semivida media de 11,3 horas y un aclaramiento medio de 2,15 ml/min/kg. Para el ejemplo 3, la semivida media es de 4,52 horas y la biodisponibilidad es de aproximadamente el 96 % según lo determinado mediante la dosis p.o., mientras que la dosis i.v. presentó una semivida media de 5,07 horas y un aclaramiento medio de 4,77 ml/min/kg. Estos datos demuestran que los ejemplos 2 y 3 presentan un aclaramiento total bajo en la rata, lo que sugiere una extracción mínima de primer paso, una elevada biodisponibilidad oral y una eliminación prolongada evidenciada por una semivida media adecuada.
- 15

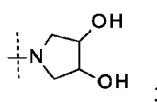
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



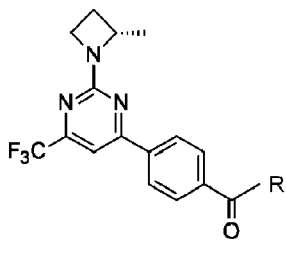
en la que:

5 R es -OH, -NHC(CH₂OH)₃ o



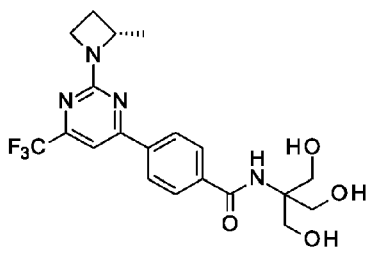
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 4. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en terapia.

5. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2.

6. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.

20 7. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de la enfermedad renal diabética.

8. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica.

9. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 5 10. Un proceso para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.