(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 566 337**

(51) Int. CI.:

C07D 277/20 (2006.01)
C07D 277/34 (2006.01)
C07D 277/36 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2006 E 06735487 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.12.2015 EP 1848700**

(54) Título: **Sales del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico y su éster de metilo como inhibidores de interleucinas para el tratamiento de la obesidad o de la diabetes**

(30) Prioridad:

17.02.2005 IN DE03472005
31.03.2005 US 96718

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.04.2016

(73) Titular/es:

BEXEL PHARMACEUTICALS INC (100.0%)
32990 ALVARADO NILES ROAD SUITE 910
UNION CITY, CA 94587, US

(72) Inventor/es:

NAG, BISHWAJIT;
NAG, ABHIJEET;
DEY, DEBENDRANATH;
AGARWAL, SHIV KUMAR;
NEOGI, PARTHA;
REDDY, GADDAM OM;
BADIGER, SANGAMESH;
SINGH, GAJENDRA;
PANDEY, SURENDRA KUMAR y
CHITHRA, SANTHANAGOPALAN

(74) Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

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

Sales del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico y su éster de metilo como inhibidores de interleucinas para el tratamiento de la obesidad o de la diabetes

La presente invención se refiere a ciertos nuevos compuestos de difenil éter y a las composiciones farmacéuticamente aceptables que los contienen.

Los compuestos de la presente invención son eficaces para reducir los niveles de glucosa sanguínea, de insulina sérica, de ácidos grasos libres, de colesterol y de triglicéridos, y son útiles en el tratamiento y/o en la profilaxis de la diabetes de tipo II. Los compuestos de la presente invención son eficaces en el tratamiento de la obesidad, de la inflamación, de enfermedades autoinmunes tales como esclerosis múltiple y artritis reumatoide. Sorprendentemente, estos compuestos aumentan el nivel de leptina y no presentan toxicidad hepática.

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de trastornos relacionados con la resistencia a la insulina, tales como el síndrome del ovario poliquístico, así como la hiperlipidemia, la enfermedad arterial coronaria y la enfermedad vascular periférica, y para el tratamiento de la inflamación y de enfermedades inmunológicas, particularmente de aquellas mediadas por citocinas tales como el TNF-α, la IL-1, la IL-6, la IL-1β, y por la ciclooxigenasa, tal como la COX-2. Los compuestos de esta clase también son útiles para el tratamiento de complicaciones de la diabetes como la retinopatía, la neuropatía, y la nefropatía y similares.

Las causas de la diabetes de tipo I y II todavía no están claras, aunque tanto la genética como el entorno parecen ser factores. La de tipo I es una enfermedad inmunitaria autónoma y el paciente debe tomar insulina para sobrevivir. La diabetes de tipo II es más habitual y es un trastorno metabólico resultante de la incapacidad del cuerpo para elaborar una cantidad suficiente de insulina o para utilizar apropiadamente la insulina que se produce. La secreción de insulina y la resistencia a la insulina se consideran los principales defectos. Sin embargo, los factores genéticos precisos implicados en el mecanismo siguen siendo desconocidos.

Los pacientes con diabetes habitualmente tienen uno o más de los siguientes defectos:

- Menor producción de insulina por parte del páncreas;
- Hipersecreción de glucosa por parte del hígado;
- Captación independiente de la glucosa por parte del músculo esquelético;
- Defectos en los transportadores de glucosa, insensibilización de los receptores de insulina; y
- Defectos en la degradación metabólica de los polisacáridos.

Además de la administración parenteral o subcutánea de insulina, existen aproximadamente cuatro clases de agentes hipoglucemiantes orales utilizados, es decir, sulfonilurea, biguanidas, e inhibidores de la glucosidasa alfa y tiazolidinadionas.

Cada uno de los agentes actuales disponibles para su uso en el tratamiento de la diabetes presenta unos ciertos inconvenientes. Por consiguiente, existe un interés continuo en la identificación y el desarrollo de nuevos agentes que puedan ser administrados por vía oral para su uso en el tratamiento de la diabetes.

La clase de las tiazolidinadionas indicada anteriormente ha adquirido un uso más extendido en los últimos años para el tratamiento de la diabetes de tipo II y muestra una utilidad particular como sensibilizante frente a la insulina para combatir la "resistencia a la insulina", una afección en la que el paciente se vuelve menos sensible a los efectos de la insulina. Existe una necesidad continua de sensibilizadores frente a la insulina no tóxicos más ampliamente eficaces.

Los recientes avances en la comprensión científica de los mediadores implicados en las enfermedades inflamatorias agudas y crónicas y en el cáncer han dado lugar a nuevas estrategias en la investigación de productos terapéuticos eficaces. Las metodologías tradicionales incluyen una intervención directa en el objetivo, tal como el uso de anticuerpos específicos, antagonistas de receptores o inhibidores enzimáticos. Los recientes descubrimientos en la elucidación de los mecanismos reguladores implicados en la transcripción y en la traducción de una diversidad de mediadores han dado lugar a un creciente interés en las metodologías terapéuticas dirigidas a nivel de la transcripción génica.

Como se ha indicado anteriormente, la presente invención también se refiere al tratamiento de enfermedades inmunológicas o de la inflamación, particularmente de enfermedades tales como las mediadas por citocinas o por la ciclooxigenasa. Los elementos principales del sistema inmunitario son los macrófagos o células presentadoras de antígeno, los linfocitos T y los linfocitos B. Los papeles de otras células inmunitarias tales como las células NK, los basófilos, los mastocitos y las células dendríticas son conocidos, pero sus papeles en los trastornos inmunológicos primarios no están totalmente elucidados. Los macrófagos son importantes mediadores tanto de la inflamación como de los procesos que proporcionan la "ayuda" necesaria para la estimulación y la proliferación de los linfocitos T. Lo más importante, los macrófagos elaboran la IL 1, la IL 12 y el TNF-α, todos los cuales son potentes moléculas

proinflamatorias y también proporcionan ayuda a los linfocitos T. Además, la activación de los macrófagos da como resultado la inducción de enzimas (tales como la ciclooxigenasa II (COX-2) y de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS)) y la producción de radicales libres capaces de dañar las células normales. Hay muchos factores que activan los macrófagos, incluyendo los productos bacterianos, los superantígenos y el interferón gamma (IFN γ). Las cinasas de fosfotirosina (PTK) y otras cinasas celulares no definidas también pueden estar implicadas en el proceso de activación.

Las citocinas son moléculas secretadas por las células inmunitarias que son importantes en la mediación de las respuestas inmunes. La producción de citocinas puede dar lugar a la secreción de otras citocinas, a una alteración en la función celular, en la diferenciación o en la división celular. La inflamación es la respuesta normal del cuerpo frente una lesión o una infección. Sin embargo, en enfermedades inflamatorias tales como la artritis reumatoide, los procesos inflamatorios patológicos pueden dar lugar a morbilidad y mortalidad. La citocina factor de necrosis tumoral necrosis alfa (TNF-α) juega un papel fundamental en la respuesta inflamatoria y ha sido señalada como un punto de intervención en la enfermedad inflamatoria. El TNF-α es una hormona polipeptídica liberada por los macrófagos activados y por otras células. A bajas concentraciones, el TNF-α participa en la respuesta inflamatoria protectora mediante la activación de los leucocitos y la promoción de su migración a sitios de inflamación extravasculares (Moser et al., J Clin Invest, 83: 444 - 55, 1989). A unas concentraciones más altas, el TNF-α puede actuar como un potente pirógeno e inducir la producción de otras citocinas proinflamatorias (Haworth et al., Eur J Immunol, 21: 2575 - 79, 1991; Brennan et al. Lancet, 2: 244 - 7, 1989). El TNF-α también estimula la síntesis de proteínas en fase aguda. En la artritis reumatoide (una enfermedad inflamatoria crónica y progresiva que afecta a aproximadamente el 1 % de la población estadounidense adulta), el TNF-α media en la cascada de citocinas que da lugar a daños y destrucción en la articulación (Arend et al., Arthritis Rheum, 38: 151 - 60, 1995). Los inhibidores del TNF-α, incluyendo los receptores solubles del TNF (etanorcept) (Goldenberg, Clin Ther, 21: 75 - 87, 1999) y los anticuerpos anti-TNF-α (infliximab) (Luong et al., Ann Pharmacother, 34: 743 - 60, 2000) han sido recientemente aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) estadounidense como agentes para el tratamiento de la artritis reumatoide. Unos niveles elevados del TNF-α también se han implicado en otros muchos trastornos y afecciones patológicas que incluyen caquexia, síndrome de choque séptico, osteoartritis, enfermedades inflamatorias del intestino, tal como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Por lo tanto, puede apreciarse que los inhibidores del TNF-α son potencialmente útiles en el tratamiento de una gran diversidad de enfermedades. Aunque se han realizado esfuerzos previos para proporcionar compuestos para la inhibición del TNF- α, de la IL-1, de la IL-6, de la COX-2 o de otros agentes considerados responsables de la respuesta inmune, de la inflamación o de enfermedades inflamatorias (por ejemplo, de la artritis), sigue habiendo una necesidad de nuevos y mejorados compuestos para tratar o inhibir eficazmente dichas enfermedades.

El documento WO-A-2004/066964 desvela fenoxi éteres de aminoácidos. El documento WO-A-2005/034981 desvela fenil éteres dipeptídicos. El documento US2005/288341 desvela derivados de difenil éter.

Un objeto de la presente invención es por lo tanto proporcionar nuevos compuestos de difenil éter y las composiciones farmacéuticas que los contienen.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos de difenil éter y las composiciones farmacéuticas que los contienen que son útiles para el tratamiento de trastornos relacionados con la resistencia a la insulina, tales como el síndrome del ovario poliquístico, así como la hiperlipidemia, la enfermedad arterial coronaria y la enfermedad vascular periférica, y para el tratamiento de la inflamación y de las enfermedades inmunológicas, particularmente de aquellas mediadas por citocinas tales como el TNF-α, la IL-1, la IL-6, la IL-1 β y la ciclooxigenasa, tal como la COX-2.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos de difenil éter y las composiciones farmacéuticas que los contienen que tienen una actividad mejorada sin un efecto tóxico o con un efecto tóxico reducido.

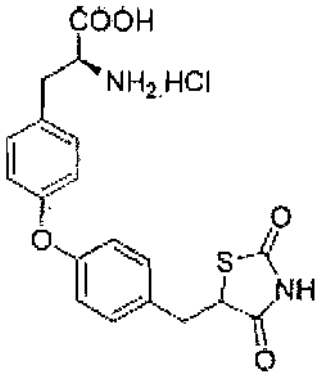
Por lo tanto, vista desde un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en:

la sal del ácido clorhídrico del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico;
la sal (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-propionato disódico;
la sal (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-propionato dipotásico; y
la sal del ácido clorhídrico del metil éster del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico.

Preferentemente, el compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

la sal del ácido clorhídrico del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico; y
la sal del ácido clorhídrico del metil éster del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico.

Un compuesto preferido es la sal del ácido clorhídrico del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico



También se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una mezcla de compuestos de acuerdo con la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable suficiente para reducir en un sujeto el nivel plasmático de glucosa, de ácidos grasos, de colesterol o de triglicéridos.

Adicionalmente se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una mezcla de compuestos de acuerdo con la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable suficiente para el tratamiento de la obesidad, de enfermedades autoinmunes, de la inflamación, de enfermedades inmunológicas, de la diabetes o de trastornos relacionados con la resistencia a la insulina en un sujeto.

Adicionalmente se proporciona un compuesto de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de una complicación diabética seleccionada de entre retinopatía, neuropatía, nefropatía y aterosclerosis.

La invención se describirá ahora con referencia a las Figuras, en las que:

La Figura 1 es una gráfica de los niveles sanguíneos de glucosa de ratones inducidos con estreptozotocina a los que se les ha administrado el compuesto 2 según se describe en el Ejemplo 47.
La Figuras 2 A y 2 B son gráficas de los niveles de triglicéridos (2 A) y de los niveles de colesterol (2 B) de ratones inducidos con estreptozotocina a los que se les ha administrado el compuesto 2 según se describe en el Ejemplo 48.
La Figura 3 es una gráfica de los niveles de glucosa sanguínea de ratones a los que se les ha administrado el compuesto 2 según se describe en el Ejemplo 49.
La Figuras 4 A, 4 B y 4 C son gráficos de barras que muestran los niveles de triglicéridos y de insulina y el recuento de islotes pancreáticos en ratones tratados con el compuesto 2 según se describe en el Ejemplo 50.
La Figuras 5 A y 5 B son gráficos de barras que muestran los niveles de triglicéridos y la presión sanguínea de ratas a las que se les ha administrado el compuesto 2 según se describe en el Ejemplo 51.
La Figura 6 es una serie de gráficas de la transcripción del PPARα, del PPARγ (completo y quimérico) y del PPARδ en células NIH 3T3 activadas con rosiglitazona, pioglitazona, el compuesto 2 u otros controles según se describe en el Ejemplo 52.
La Figura 7 es un gráfico de barras de la captación de glucosa de los adipocitos tratados con los compuestos 2 o 16 a unas concentraciones de 0,1, 1, y 10 μM según se describe en el Ejemplo 53.
La Figura 8 es una gráfica de los niveles de glucosa sanguínea en ratones tratados con el compuesto 16 según se describe en el Ejemplo 54.
La Figura 9 es una gráfica de la acumulación de triglicéridos en un ensayo de adipogénesis con fibroblastos tratados con los compuestos 2 y 16 según se describe en el Ejemplo 55.
La Figura 10 es una gráfica de los niveles de glucosa sanguínea en ratones tratados con los compuestos 20 y 36 según se describe en el Ejemplo 56.
La Figuras 11 A y 11 B son gráficas del cambio en el peso corporal y en el nivel de triglicéridos de ratones tratados con los compuestos 20 y 36 según se describe en el Ejemplo 57.
La Figuras 12 A y 12 B son gráficas de los niveles de glucosa sanguínea y del peso corporal de ratones tratados con el compuesto 36 según se describe en el Ejemplo 58.
La Figuras 13 A y 13 B son gráficos de barras de la inhibición de la aldosa reductasa por parte del compuesto 2 (Fig. 13 A) y del compuesto 16 (Fig. 13 B) según se describe en el Ejemplo 59.

Las estructuras de los compuestos descritos en el presente documento y su captación de glucosa en células 3T3L-1 se proporcionan en las siguientes Tablas I - IV:

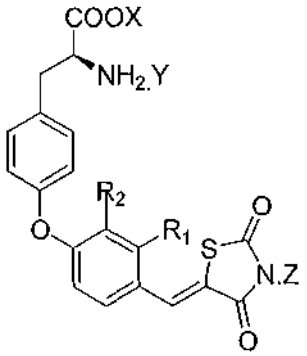


Tabla I fórmula de referencia

Tabla I						
Comp. nº	R_1	R_2	X	Y	Z	Captación de glucosa en células 3T3L-1 (1 µM)
10^+	H	H	K	ninguno	K	2,07
11^+	H	H	Na	ninguno	Na	1,49
3^+	F	H	CH_3	HCl	H	1,20
5^+	Cl	H	CH_3	HCl	H	NC
6^+	H	OCH_3	CH_3	HCl	H	NC
7^+	H	NO_2	CH_3	HCl	H	NC
NC = menos de 1,2 veces por encima del basal $^+$ como referencia						

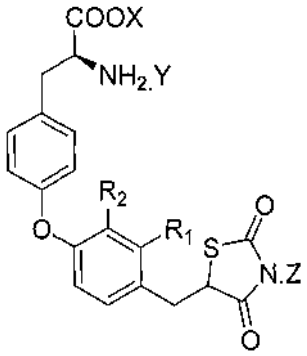


Tabla II fórmula de referencia

Tabla II						
Comp. nº	R_1	R_2	X	Y	Z	Captación de glucosa en células 3T3L-1 (1 µM)
isómero 2 S	H	H	CH_3	HCl	H	1,79
isómero 2 R **	*H*	*H*	*CH_3*	*HCl*	*H*	1,68
16	H	H	H	HCl	H	1,69 *
19^+	H	H	$N(CH_3)_2$	HCl	H	1,82
12^+	Cl	H	CH_3	HCl	H	1,45
13^+	H	Cl	CH_3	HCl	H	1,61
** únicamente con fines comparativos $^+$ como referencia						

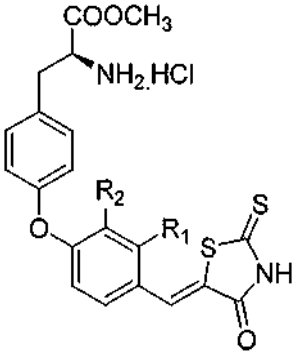


Tabla III fórmula de referencia

Tabla III			
Comp. nº	R_1	R_2	Captación de glucosa en células 3T3L-1 (1 µM)
20+	H	H	NC
21+	F	H	NC
22+	H	F	NC
23+	Cl	H	NC
24+	H	Cl	1,39
NC = menos de 1,2 veces por encima del basal + como referencia			

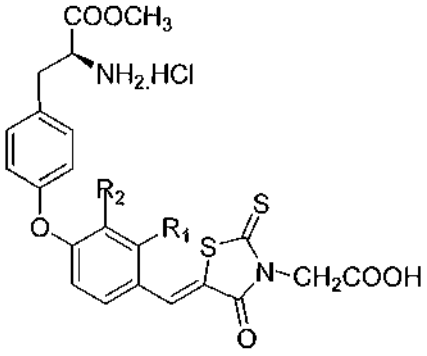
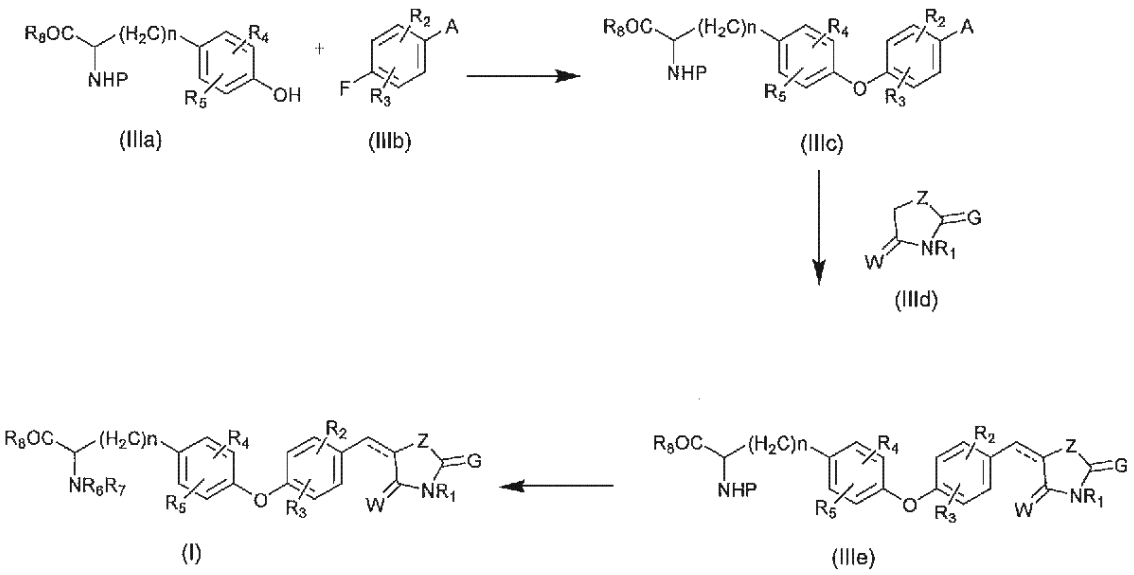


Tabla IV fórmula de referencia

Tabla IV			
Comp. nº	R_1	R_2	Captación de glucosa en células 3T3L-1 (1 µM)
37+	Cl	H	NC
38+	H	Cl	1,59
40+	H	CF_3	1,54
NC = menos de 1,2 veces por encima del basal + como referencia			

Los compuestos descritos en el presente documento pueden prepararse de acuerdo con el esquema de reacción general I

Esquema I



en el que:

A= CHO o CH_2-M;
P es un grupo protector de N;
--- puede representar o no un enlace;
W representa O o S;
Z representa CR_{10}, O o S;
G representa O, S o junto con R_{10} forma un sistema de anillo aromático o heteroaromático de 5 o 6 miembros que contiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de entre O, S o N;
R_2, R_3, R_4 y R_5 se eligen de entre hidrógeno, halógeno tales como flúor, cloro, bromo o yodo; hidroxi, nitro, ciano, formilo, amino, un grupo alquilo (C_1-C_6) lineal o ramificado sustituido o no sustituido tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, y similares; un grupo alcoxi (C_1-C_6) sustituido o no sustituido tal como metoxi, etoxi, propoxi, butoxi y similares;
R_6 y R_7 pueden ser iguales o diferentes y representan independientemente H, COR_{12}, grupos sustituidos o no sustituidos seleccionados de entre alquilo, alquenilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo; en la que R_{12} representa H, grupos sustituidos o no sustituidos seleccionados de entre alquilo, alquenilo, arilo, alqueniloxi, ariloxi, alcoxi, aralquilo o aralcoxi;
R_8 representa -OR_{13} o $NR_{14}R_{15}$; en la que R_{13} representa hidrógeno, grupos sustituidos o no sustituidos seleccionados de entre alquilo, alquenilo, arilo, aralquilo, heteroarilo o un contraión; R_{14} y R_{15} pueden ser iguales o diferentes y representan independientemente H o alquilo, alquenilo o arilo sustituidos o no sustituidos;
R_1 representa hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, alquenilo, -CH_2COOR o arilo, o un contraión; en la que R representa H o alquilo (C_1-C_6);
R_{10} opcionalmente junto con G forma un sistema de anillo aromático o heteroaromático de 5 o 6 miembros tal como fenilo, naftilo, furilo, pirrolilo, piridilo y similares; y M representa un grupo saliente adecuado seleccionado de entre cloro, bromo, yodo, OSO_2CH_3, O-SO_2Ph, O-$SO_2C_6H_4$-CH_3 y grupos salientes similares.

La reacción de un compuesto de fórmula (IIIa) con un compuesto de fórmula (IIIb) produce un compuesto de fórmula (IIIc) en presencia de disolventes, tales como THF, DMF, DMSO, DME y similares (o mezclas de disolventes). La reacción puede llevarse a cabo en una atmósfera inerte. La reacción puede realizarse en presencia de una base tal como K_2CO_3, Na_2CO_3, NaH o mezclas de las mismas. La temperatura de la reacción puede variar en un rango de entre 20 ºC y 150 ºC, preferentemente a una temperatura en el rango de entre 30 ºC y 100 ºC. La duración de la reacción puede variar de entre 1 y 24 horas, preferentemente de entre 2 y 6 horas. La reacción del compuesto de la fórmula general (IIIc) con un compuesto de fórmula (IIId) puede llevarse a cabo:

mediante la creación de un enlace C-C con la reacción del grupo aldehído y del grupo metileno activo de (IIId) afectando la deshidratación;
mediante la creación de un enlace C-N cuando A es un grupo CH_2M y está unido al nitrógeno del anillo de (IIId) en presencia de base.

Ambas metodologías pueden llevarse a cabo en presencia de una base y en presencia de un disolvente tal como tolueno, metoxietanol o mezclas de los mismos, para producir un compuesto de fórmula (IIIe). La temperatura de la reacción puede variar en un rango de entre 60 ºC y 180 ºC, cuando la reacción se lleva a cabo pura en presencia de acetato de sodio. También puede emplearse un catalizador adecuado tal como acetato o benzoato de piperidinio, acetato de sodio o mezclas de catalizadores. Puede usarse acetato de sodio en presencia de un disolvente, pero se prefiere usar el acetato de sodio puro. El agua producida en la reacción puede ser eliminada mediante el uso de un separador de agua Dean Stark o mediante el uso de agentes absorbentes de agua como tamices moleculares.

La desprotección de la fórmula (IIIe) para producir el compuesto de fórmula (I) puede llevarse a cabo mediante el uso de ácidos tales como HCl, ácido sulfúrico, ácido acético en presencia de disolventes, tales como DCM, acetato de etilo, agua y similares o una mezcla de los mismos, a una temperatura en el rango de entre -10 ºC y 50 ºC.

Cuando --- representa un enlace, la penúltima etapa puede ser una etapa de reducción. La reducción puede llevarse a cabo en presencia de hidrógeno gaseoso y de un catalizador tal como Pd/C, Rh/C, Pt/C, níquel-Raney y similares. Pueden usarse mezclas de catalizadores. La reacción puede realizarse en presencia de disolventes, tales como metanol, diclorometano, dioxano, ácido acético, acetato de etilo y similares. Pueden usarse mezclas de disolventes. Puede emplearse una presión entre la presión atmosférica y 100 psi. El catalizador puede ser un 5 - 10 % de Pd/C y la cantidad de catalizador usada puede variar en un rango de entre 50 - 300 % p/p.

Los grupos protectores P son grupos protectores convencionales tales como t-butoxi carbonilo (t-Boc), tritilo, trifluoroacetilo, benciloxi, benciloxi carbonilo (Cbz) y similares.

Las sales farmacéuticamente aceptables se preparan haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (I) con entre 1 y 4 equivalentes de una base tal como hidróxido de sodio, metóxido de sodio, hidruro de sodio, t-butóxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio y similares, en disolventes como éter, THF, metanol, t-butanol, dioxano, isopropanol, etanol etc. Pueden usarse mezclas de disolventes. También pueden usarse bases orgánicas como lisina, arginina, dietanolamina, colina, guanidina y sus derivados, etc. Alternativamente, las sales de adición ácida se preparan mediante tratamiento con ácidos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido p-toluensulfónico, ácido metansulfónico, ácido acético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido salicílico, ácido hidroxinaftoico, ácido ascórbico, ácido palmítico, ácido succínico, ácido benzoico, ácido bencensulfónico, ácido tartárico y similares en disolventes como acetato de etilo, éter, alcoholes, acetona, THF, dioxano etc. También pueden usarse mezclas de disolventes.

Vista desde un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una mezcla de compuestos como se ha definido anteriormente en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable suficiente para reducir en un sujeto el nivel plasmático de glucosa, de ácidos grasos, de colesterol o de triglicéridos.

Vista desde un aspecto adicional más, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una mezcla de compuestos como se ha definido anteriormente en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable suficiente para el tratamiento de la obesidad, de enfermedades autoinmunes, de la inflamación, de enfermedades inmunológicas, de la diabetes o de trastornos relacionados con la resistencia a la insulina en un sujeto.

La composición farmacéutica puede estar en las formas empleadas normalmente (tales como comprimidos, cápsulas, polvos, jarabes, soluciones, suspensiones y similares) y puede contener saborizantes, edulcorantes etc. en vehículos o diluyentes sólidos o líquidos adecuados, o en un medio estéril adecuado para formar soluciones o suspensiones inyectables. Dichas composiciones contienen normalmente de entre el 1 al 25 %, preferentemente de entre el 1 al 15 % en peso del compuesto activo, siendo el resto de la composición vehículos, diluyentes, excipientes o disolventes farmacéuticamente aceptables.

Algunos vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen agentes de relleno sólidos o diluyentes y soluciones estériles acuosas u orgánicas. El compuesto activo estará presente en dichas composiciones farmacéuticas en una cantidad suficiente para proporcionar la dosis deseada en el rango como se ha descrito anteriormente. Por tanto, para su administración por vía oral, los compuestos pueden combinarse con un vehículo sólido o líquido o un diluyente adecuado para formar cápsulas, comprimidos, polvos, jarabes, soluciones, suspensiones y similares. Si se desea, las composiciones farmacéuticas pueden contener componentes adicionales tales como saborizantes, edulcorantes, excipientes y similares. Para su administración por vía parenteral, los compuestos pueden combinarse con un medio acuoso u orgánico estéril para formar soluciones o suspensiones inyectables. Por ejemplo, pueden usarse soluciones en aceite de sésamo o de cacahuete, en propilenglicol acuoso y similares, así como soluciones acuosas de sales de adición ácida o de sales de metales alcalinos o alcalinotérreos solubles en agua farmacéuticamente aceptables de los compuestos. Las soluciones inyectables preparadas de esta forma pueden administrarse por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular, siendo preferida la administración intramuscular en los seres humanos.

Las composiciones farmacéuticas de la invención son eficaces para reducir la glucosa en sangre, la insulina sérica y los niveles de triglicéridos, según muestran los ensayos con modelos animales de diabetes. Las composiciones farmacéuticas de la invención son por lo tanto eficaces para el tratamiento de la diabetes, de tipo I o de tipo II. Las composiciones farmacéuticas de la invención son también eficaces en el tratamiento de obesidad, de la inflamación, de enfermedades autoinmunes. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también son eficaces en la reducción de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres y de colesterol. Adicionalmente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son útiles para el tratamiento de trastornos relacionados con la resistencia a la insulina, tales como el síndrome del ovario poliquístico, así como la hiperlipidemia, la enfermedad arterial coronaria y la enfermedad vascular periférica, y para el tratamiento de la inflamación y de enfermedades inmunológicas, particularmente de aquellas mediadas por citocinas tales como el TNF-α, la IL-1, la IL-6 y la ciclooxigenasa tales como la COX-2. Generalmente, la dosis efectiva para el tratamiento de una afección en particular en un paciente puede ser fácilmente determinada y ajustada por el médico durante el tratamiento para aliviar los síntomas o los signos de la afección o de la enfermedad. Generalmente, es apropiada la administración de una dosis diaria del compuesto activo en el intervalo de entre aproximadamente 0,01 y 1.000 mg/kg de peso corporal para obtener unos resultados eficaces. La dosis diaria puede ser administrada en una única dosis o en varias dosis divididas. En algunos casos, dependiendo de la respuesta individual, puede ser necesario desviarse hacia arriba o hacia abajo con respecto a la dosis diaria inicialmente prescrita. Las preparaciones farmacéuticas típicas contienen normalmente de entre aproximadamente 0,2 y aproximadamente 500 mg del compuesto activo de fórmula I y/o de sus sales o solvatos farmacéuticamente activos por dosis.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva" o "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad de un compuesto o de una mezcla de compuestos que es suficiente para efectuar el tratamiento, según se define a continuación, cuando es administrada sola o junto con otras terapias a un mamífero en necesidad de dicho tratamiento. Más específicamente, es aquella cantidad que es suficiente para reducir los niveles plasmáticos de glucosa, de ácidos grasos, de colesterol o de triglicéridos o para el tratamiento de la obesidad, de enfermedades autoinmunes, de la inflamación, de enfermedades inmunológicas, de la diabetes y de los trastornos relacionados con la resistencia a la insulina. El término "animal" según se usa en el presente documento pretende incluir todos los mamíferos, y en particular los seres humanos. Dichos animales también se denominan en el presente documento sujetos o pacientes en necesidad de tratamiento. La cantidad terapéuticamente efectiva variará dependiendo del sujeto y de la afección patológica que se va a tratar, del peso y de la edad del sujeto, de la gravedad de la afección patológica, del compuesto en particular de Fórmula I elegido, del régimen de dosificación que se va a seguir, de la cronología de administración, de la forma de administración y similares, todo los cuales pueden ser fácilmente determinados por el experto habitual en la materia.

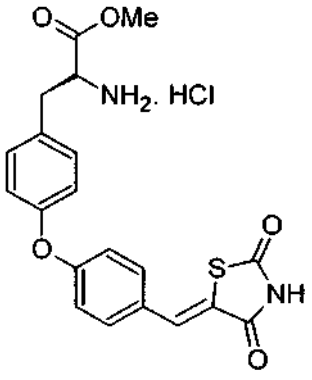
El término "tratamiento" o "tratar" significa cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, incluyendo:

a) la prevención de la enfermedad, es decir, evitar que los síntomas clínicos de la enfermedad se desarrollen;
b) la inhibición de la enfermedad, es decir, ralentizar o detener el desarrollo de los síntomas clínicos; y/o
c) el alivio de la enfermedad, es decir, causar la reversión de los síntomas clínicos.

La invención se explica con detalle en los ejemplos proporcionados a continuación, que se proporcionan únicamente como ilustrativos y por lo tanto no deben ser interpretados como limitantes del ámbito de la invención. En la sección de Ejemplos, los Compuestos 2, 16, 17 y 18 son de la invención. La información relativa a los demás Compuestos se proporciona como referencia.

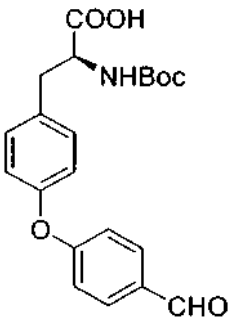
Ejemplo 1

Síntesis de la sal de clorhidrato de la 5-[4-(4-(2-amino-2-metoxicarboniletil)fenoxi)benciliden]-tiazolidin-2,4-diona



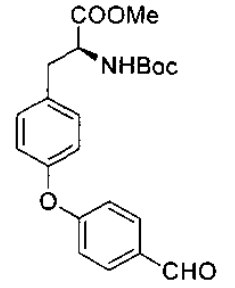
(1)

Etapa I: preparación del ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-3-(4-(4-formilfenoxi)fenil)-propanoico



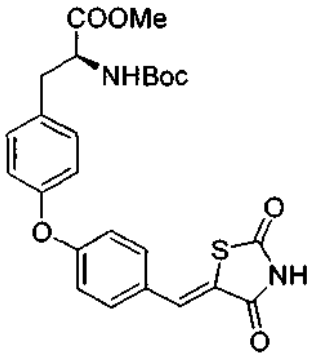
Disolver N-terc-butoxicarbonil-L-tirosina (2,42 kg, 8,3 moles) en DMF seca (7,26 l) bajo argón y dejar reposar hasta su completa disolución. Añadir K_2CO_3 (3,57 kg, 25,81 moles), 4-fluorobenzaldehído (5,34 kg, 43,01 moles) y agitar a 70 ± 5 ºC durante 48 h en una atmósfera de argón. Enfriar la mezcla de reacción por debajo de 30 ºC. Verter la mezcla de reacción en agua (75 l) y agitar durante 15 min. Añadir acetato de etilo (40 l) y agitar durante 30 min. Separar la capa orgánica y acidificar la capa acuosa con HCl (6 M) a pH 2. El precipitado sólido se disolvió en acetato de etilo (40 l) y la capa acuosa se separó. La capa orgánica se lavó con salmuera (40 l), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó el disolvente a presión reducida. Pureza observada mediante HPLC (93,4 %) y pureza quiral mediante una HPLC (100 %). Secar con $MgSO_4$ anhidro y evaporar a presión reducida. Sólido de color amarillo pálido (3,06 kg, 99,3 %). RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): 9,89 (s, 1H), 7,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,00 (solapado d, J = 9,0 Hz, 4H), 4,63 (m, 1H), 3,2 (m, 1H), 3,06 (m, 1H), 1,40 (s, 9H).

Etapa II: preparación del metil éster del ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-3-(4-(4-formilfenoxi)fenil)-propanoico



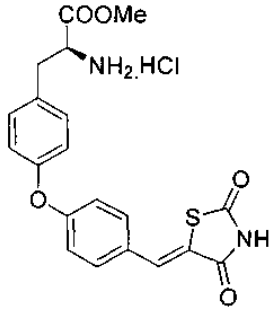
Disolver el ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-3-(4-(4-formilfenoxi)fenil) propanoico (2,97 kg, 7,7 moles) en DMF seca (14,84 l). Añadir $NaHCO_3$ (1,29 kg, 15,4 moles) y yodometano (6,56 kg, 46,19 moles) en una atmósfera inerte y agitar a la temperatura ambiente durante 14 h. Comprobar la finalización de la reacción mediante una TLC (gel de SiO_2, $CHCl_3$-MeOH, 9:1). La mezcla de reacción se vertió en agua y se agitó durante 15 min. Añadir acetato de etilo (40 l). La capa orgánica se lavó con salmuera y se evaporó a presión reducida. Rendimiento de 3,06 kg, 99,3 %, pureza mediante HPLC del 94,6 % y pureza quiral del 100 % ee. RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$): 9,92 (s, 1H), 7,83 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,16 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,02 (solapado d, 4H), 5,03 (s a, 1H), 4,59 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,13 (dd, J = 5,7 y 13,8 Hz, 1H), 3,00 (dd, J = 6,3 y 13,8 Hz, 1H), 1,43 (3, 9H).

Etapa III: preparación del metil éster del ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-3-(4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilidenmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico



Disolver el metil éster del ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-3-(4-(4-formilfenoxi)fenil) propanoico (3,05 kg, 7,64 moles) en tolueno (18 l). Añadir secuencialmente ácido benzoico (144,9 g), piperidina (87,6 g) y 2,4-tiazolidinadiona (1,11 kg, 20,5). Eliminar el agua azeotrópicamente durante 6 h. Comprobar la finalización de la reacción mediante una TLC (gel de SiO_2, $CHCl_3$-MeOH, 19:1). Eliminar por destilación la mitad del disolvente y enfriar hasta la temperatura ambiente, lavar con una solución al 5 % de bicarbonato de sodio, agua, salmuera y secar sobre sulfato de sodio anhidro. Rendimiento de 3,80 kg, 99,9 %, pureza quiral del 100 % ee. RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD): 7,75 (s, 1H), 7,52 (d, J = 9,0 Hz, 2H) 7,26 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,26 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,03 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 6,95 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 4,38 (m, 1H), 3,71 (S, 3H), 3,12 (dd, J = 5,4 y 13,5 Hz, 1H), 2,85 (dd, J = 9,3 y 13,5 Hz, 1H), 1,30 (s, 9H).

Etapa IV: preparación de la sal de clorhidrato de la 5-[4-(4-(2-amino-2-metoxicarboniletil)fenoxi)benciliden] tiazolidin-2,4-diona

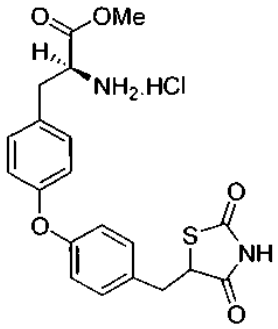


(1)

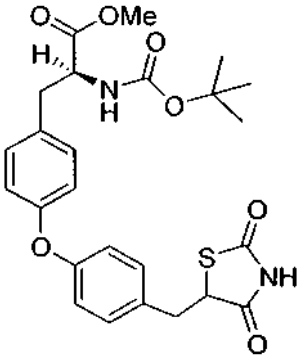
Se hizo pasar HCl gaseoso seco lentamente en la solución del metil éster del ácido 2-terc-butoxicarbonilamino-3-{4-[4-(2-oxo-1,2-dihidro-indol-3-ilidenmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico (1,2 g, 2,4 mmol) en diclorometano (100 ml) a entre 0 ºC y 5 ºC durante 2 h. Después de completarse la reacción, le exceso de ácido clorhídrico gaseoso se eliminó mediante el burbujeo de nitrógeno gaseoso. El sólido así separado se filtró, se lavó con diclorometano (25 ml) y se secó para formar el producto del título (0,84 g, 80,56 %), RMN ^1H (D_2O, 400 MHz) δ ppm: 7,76 (s, 1H), 7,62 (d, 2H), 7,30 (d, 2H), 7,1 (m, 4H), 4,3 (t, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,14 (m, 2H), m/z $^{M+1}$ 399,2.

Ejemplo 2

Síntesis del clorhidrato del metil éster del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico (COMPUESTO 2)

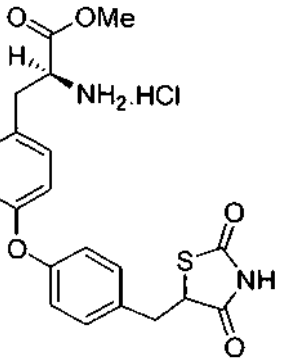


Etapa I: preparación del clorhidrato del metil éster del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilidenmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico



Disolver el metil éster del ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilidenmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico (2,5 kg, 5,02 moles) en metanol (25 l). Bajo un atmósfera de nitrógeno, añadir paladio sobre carbono (10 %, 940 g, 50 % de humedad). La temperatura se elevó hasta 75 ± 5 ºC y se cargó hidrógeno a 150 - 200 psi y se mantuvo durante 18 h. La finalización de la reacción se monitorizó mediante una HPLC. Se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró el catalizador a través de un lecho de Celite®. Lavar el lecho con metanol. Evaporar el disolvente y secar el compuesto. Rendimiento del 100 %, 2,51 kg. RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$) ; 7,18 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,10 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,93 (solapado d, 4H), 5,03 (a, 1H), 4,58 (m, 1H), 4,51 (dd, J = 3,9 y 9,3H, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,50 (dd, J = 3,9 y 14,1 Hz, 1H), 3,13 (dd, J = 9,6 y 14,1 Hz, 1H), 2,97 - 3,04 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

Etapa II: preparación del clorhidrato del metil éster del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico



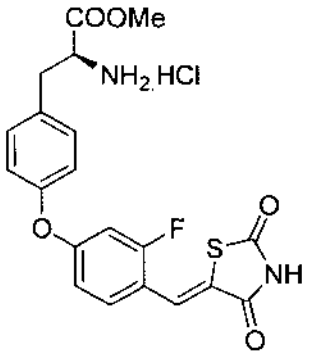
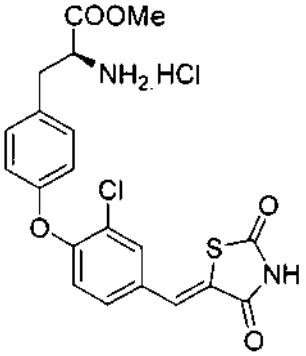
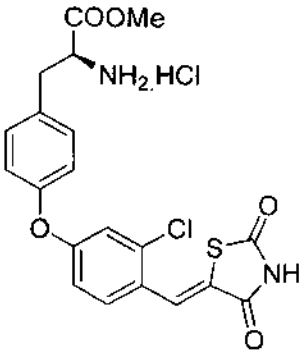
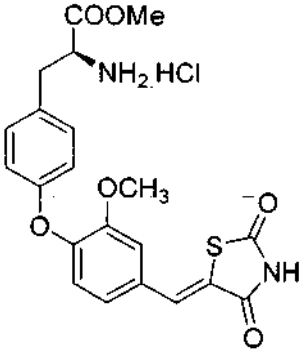
(2)

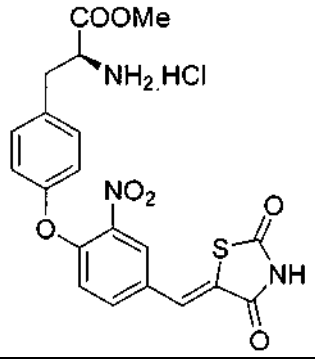
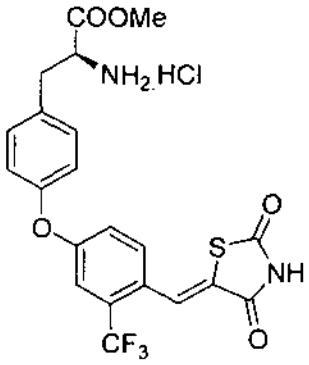
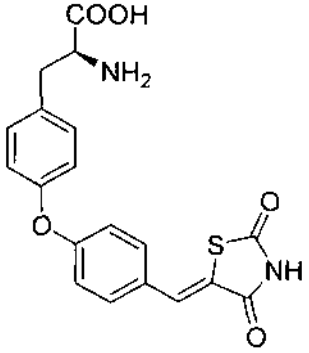
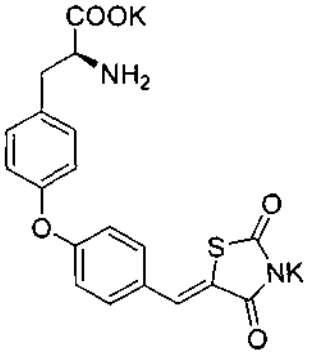
Suspender el producto de la Etapa 4 (2,5 kg) en una mezcla de MTBE (9,66 l) y metanol (9,85 l), a esto añadir HCl 2 M en éter (13,6 l) y agitar la mezcla de reacción hasta que se complete la reacción. La purificación de la mezcla en bruto produjo 1,3 kg (60,0 %) de producto puro 98,35. RMN ^{1}H (300 MHz, $DMSOd_6$): 7,28 (d, J = 8,7 Hz, 4H), 6,96 (solapado d, 4H), 4,91 (dd, J = 4,2 y 9,0 Hz, 1H), 4,26 (t, J = 6,9 Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,37 (dd, J = 4,5 y 14,4 Hz, 1H), 3,09 - 3,16 (m, 2H).

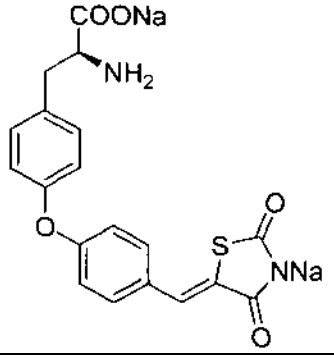
Ejemplos 3 hasta 11

Se prepararon compuestos adicionales siguiendo de forma general el procedimiento del Ejemplo 1. Los análisis de los compuestos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: compuestos de tiazolidinediona no reducidos

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
3		Rendimiento: 0,200 g (83,3 % RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 6,9 (m, 1H), 7,1 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 7,5 (m, 1H), 7,7 (s, 1H),8,5 (s a, 2H); m/z $^{m+1}$: 417,1.
4		Rendimiento: 0,45 g (93,7 % RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,0 (m, 3H), 7,3 (d, 2H), 7,5 (m, 1H), 7,8 (s, 1H), 7,9 (s, 1H), 8,4 (s a, 2H); m/z $^{m+1}$: 433,2.
5		Rendimiento: 0,39 g (97,5 %, RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,1 (m, 4H), 7,2 (d, 2H), 7,5 (d, 1H), 7,8 (s, 1H), 8,4 (s a, 2H); m/z $^{m+1}$: 433,2.
6		Rendimiento: 0,095 g (56,78 % , RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (dd, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 4,27 (t, 1H), 6,90 (d, 2H), 7,00 (d, 1H), 7,20 (m, 3H), 7,39 (d, 1H) 7,80 (s, 1H) 8,4 (s a, 2H); m/z^{m+1}: 429,

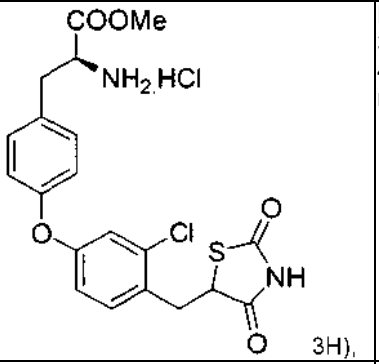
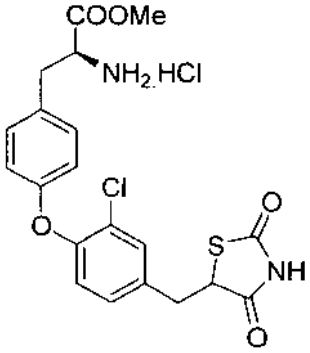
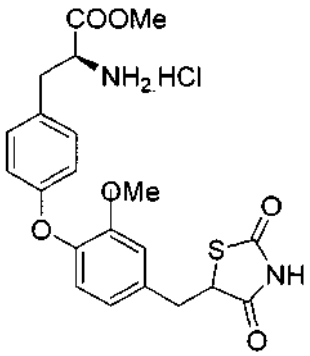
Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
7		Rendimiento: 0,085 g (60,16 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,16 (d, 2H), 3,72 (s, 3H), 4,34 (t, 1H), 7,15 (dd, 3H), 7,35 (d, 2H), 7,86 (m, 2H), 8,34 (d, 1H), 8,55 (s a, 2H) m/z^{m+1}: 444.
8		Rendimiento de 0,131 g (40,8 %, pureza mediante HPLC del 91,8 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz); δ 3,1 (m, 2H),3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,1 (d, 2H), 7,3 (m, 3H), 7,4 (d, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,79 (s, 1H) m/z^{m+1}: 467,1
9		Rendimiento: 0,24 g (87,3 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (m, 2H), 4,2 (m, 1H), 7,1 (m, 4H), 7,3 (d, 2H), 7,6 (d, 2H), 7,7 (s, 1H). m/z^{m+1}: 384,8
10		Rendimiento: 0,75 g (82,46 %), RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz): δ 2,4 (m, 1H), 2,98 (d, 1H), 3,10 (m, 1H), 6,93 (d, 2H), 7,03 (d, 2H), 7,26 (d, 2H), 7,28 (s, 1H), 7,50 (d, 2H), m/z^{m+1}: 385,1

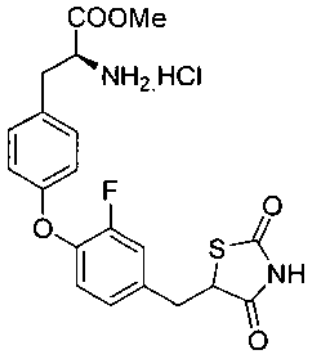
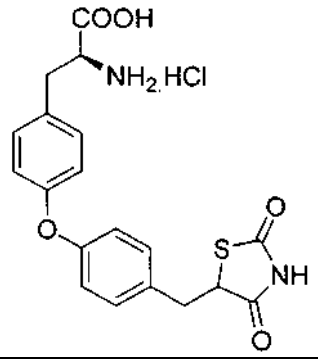
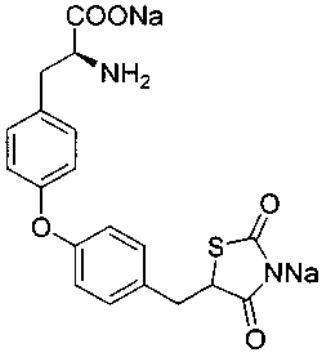
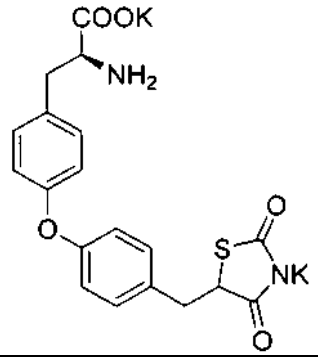
Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
11		Rendimiento: 0,76 g (85,29 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 2,4 (m, 1H), 2,98 (d, 1H), 3,09 (m 1H), 6,93 (d, 2H),7,03 (d, 2H), 7,26 (d, 2H), 7,28 (s, 1H), 7,50 (d, 2H), m/z^{m+1}: 385,0

Ejemplos 12 hasta 18

Se prepararon compuestos adicionales siguiendo de forma general el procedimiento del Ejemplo 2. Los análisis de los compuestos se muestran en la en la Tabla 2.

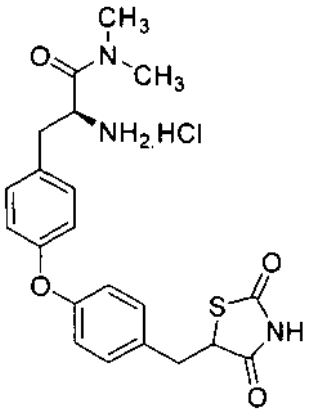
Tabla 2: compuestos de tiazolidinadiona reducidos

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
12		Rendimiento: 0,145 g (96,0 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,0 (m, 2H), 3,19 (m, 1H), 3,5 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 4,2 (m, 1H), 4,88 (m,1H), 6,9 (m, 1H), 7,0 (m, 3H), 7,2 (m, 2H), 7,37 (d,1H), m/z^{m+1}: 435,2.
13		Rendimiento: 0,18 g (96,0 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,02 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 4,28 (m, 1H), 4,95 (m,1H), 6,9 (m, 2H), 7,0 (d, 1H), 7,2 (m, 3H), 7,5 (s, 1H), m/z^{m+1}: 434,9.
14		Rendimiento:0,180 g (69,50 %, pureza mediante HPLC del 94,7 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz); δ 3,1 (m, 3H), 3,4 (dd, 1H), 3,7 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 4,2 (t, 1H), 4,9 (m, 1H), 6,7 (d, 2H), 6,8 (d, 1H), 6,9 (d, 1 H), 7,0 (s, 1H), 7,1 (d, 2H), 8,5 (s a, 2H); m/z^{m+1}: 431,2

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
15		Rendimiento:0,49 g (97,6 %); RMN ^{1}H (DMSO-$_6$ 400 MHz); δ 3,0 (m, 2H), 3,1 (m, 1H), 3,4 (s, 1H), 3,7 (1, 3H), 4,2 (m, 1H), 4,9 (m, 1H), 6,9 (d, 2H), 7,0 (d, 2H), 7,2 (d, 2H), 7,3 (d, 2H); m/z^{m+1}: 419,1
16		Rendimiento: 2,8 g (93,3 %, RMN ^{1}H DMSO-d$_6$ 400 MHz): δ 3,1 (m, 3H), 3,3 (m, 1H), 4,1 (m, 1H), 4,8 (m, 1H), 6,9 (m, 4H), 7,2 (m, 4H). m/z^{m+1}: 387,1. p. f. 181 - 190 ºC.
17		Rendimiento: 0,620 g (69,58 %, pureza mediante HPLC del 98,4 %); RMN ^{1}H (DMSOd$_6$ 400 MHz); δ 2,6 (m, 2H), 3,0 (dd, 1H), 3,1 (m, 1H), 3,4 (dd, 1H), 4,2 (dd, 1H), 6,8 (d, 4 H), 7,2 (d, 4H); m/z^{m+1}: 387,1
18		Rendimiento de 0,600 g (62,69 %, pureza mediante HPLC del 90,5 %); RMN ^{1}H (DMSO-d$_6$ 400 MHz); δ 2,6 (m, 2H), 3,0 (dd, 1H), 3,1 (m, 1H), 3,3 (dd, 1H), 4,2 (dd, 1H), 6,8 (d, 4H),7,2 (d, 4H); m/z^{m+1}: 387,1

Ejemplo 19

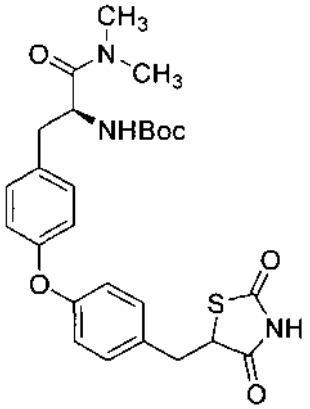
Síntesis de la sal del ácido clorhídrico de 2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-N,N-dimetilpropionamida (19)



(19)

Etapa I

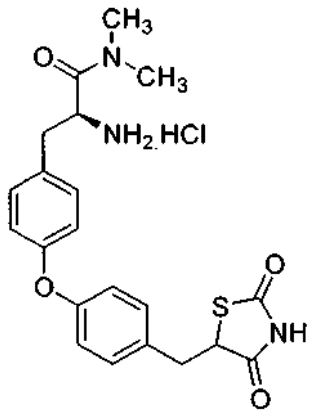
Preparación del terc-butil éster del ácido (1-dimetilcarbamoil-2-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-etil)-carbámico.



El compuesto, el ácido 2-terc-butoxicarbonilamino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico (4,2 g, 8,63 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 (30 ml) y se agitó a la temperatura ambiente en una atmósfera de argón. Se añadieron trietilamina (1,44 ml, 0,014 mmol) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino) fosfonio (reactivo BOP, 4,19 g, 9,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 min. Se añadió dimetilamina (solución 2,0 M en THF, 5,6 ml, 11,2 mmol) y la solución resultante se agitó a la temperatura ambiente durante aproximadamente 1 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite resultante se recogió en EtOAc (100 ml). La capa orgánica se extrajo con NaOH 0,5 N (1 x 50 ml), agua (1 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml). La cromatografía en gel de sílice del producto en bruto con $CHCl_3$-MeOH (19:1) produjo la amida pura, terc-butil éster del ácido (1-dimetilcarbamoil-2-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-etil)-carbámico (0,61 g, 13,8 %). RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$): 7,17 (solapado d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,16 (solapado d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,92 (solapado d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,90 (solapado d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,51 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,81 (m, 1H), 3,02 - 3,13 (m, 2H), 2,83 - 2,95 (m, 5H), 2,76 (s, 3H), 1,46 (s, 9H).

Etapa II

Preparación de la sal del ácido clorhídrico de la 2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-N,N-dimetilpropionamida.



(19)

Se disolvió el terc-butil éster del ácido (1-dimetilcarbamoil-2-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-etil)-carbámico (0,25 g) en CH_2Cl_2 y se enfrió hasta 0 - 5 ºC. Se burbujeó cloruro de hidrógeno gaseoso a través de esta solución durante 30 min. El exceso de HCl se desgasificó y se eliminó el CH_2Cl_2. El sólido residual se trituró con EtOAc (2 x 25 ml), se decantó y se secó para producir el compuesto deseado de la sal del ácido clorhídrico de la 2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxotiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-N,N-dimetilpropionamida en forma de un sólido amorfo de color blanco (0,16 g, 73,1 %). RMN ^{1}H (DMSO-d_6): 12,05 (a, 1H), 7,26 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,22 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,96 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,90 (dd, J = 9,6 y 4,4 Hz, 1H), 4,53 (a, 1H), 2,91-3,14 (m, 4H), 2,81 (s, 3H), 3,05 (s, 3H).

Los compuestos de rhodanina y de ácido acético de rhodanina se elaboran siguiendo los métodos generales indicados en el Ejemplo 1 y 2 mediante el uso de rhodanina o de ácido acético de rhodanina en la etapa III, respectivamente. La reducción del doble de las series de moléculas de rhodanina se realiza mediante el método general **A** y la de las series de ácido acético de rhodanina mediante el método general **B**.

Método general A

A la solución del material de partida (1,0 g, 1 eq) en tolueno (120 ml) se añadió 1,4-dihidro-3,5-dicarbetoxi-2,6-dimetil piridina (1,3 eq) y gel de sílice (3,0 g). La mezcla de reacción se calentó a 80 ºC y se agitó durante 36 h. El progreso de la reacción se controló mediante una HPLC. La mezcla de reacción se filtró, se lavó con acetato de etilo. El disolvente se evaporó a presión reducida, el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con HCl diluido. El acetato de etilo se evaporó a presión reducida.

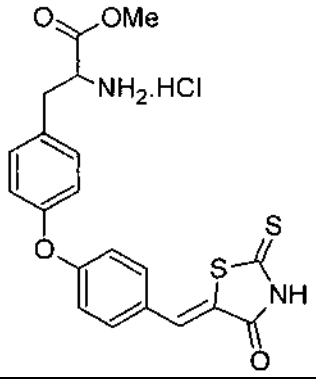
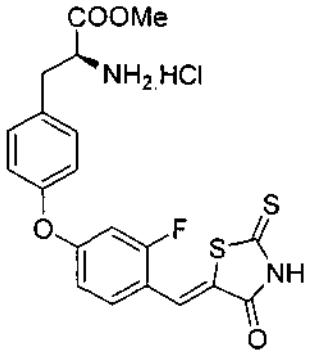
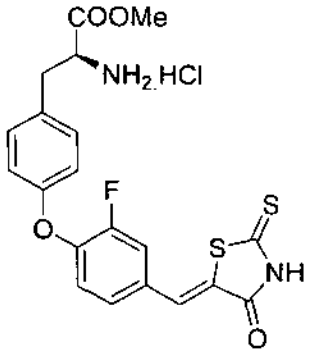
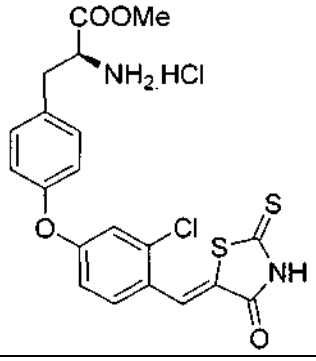
Método general B

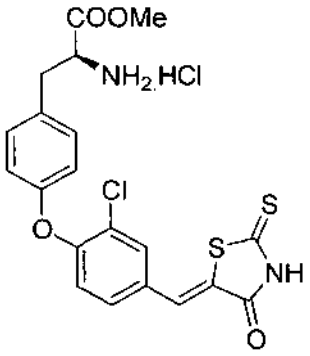
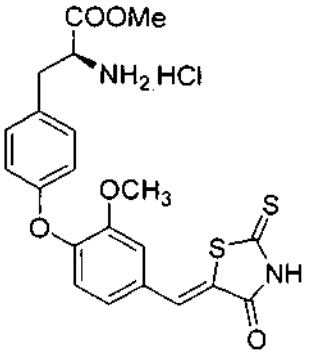
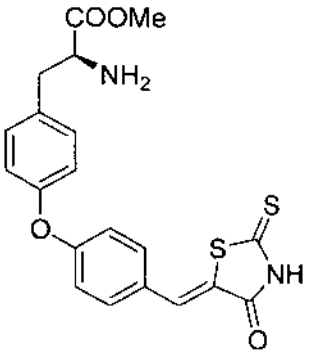
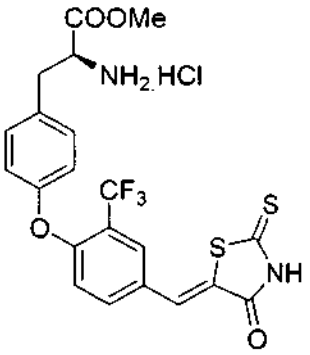
Se añadió óxido de Pt (IV) (0,35 mmol) a la solución del compuesto (2,62 mmol) en metanol (250 ml) y se cargó en un matraz de hidrogenación. La mezcla de reacción se hidrogenó a una presión de 210 psi durante 80 h y se monitorizó mediante una HPLC. El producto en bruto obtenido, que contiene material de partida sin reaccionar, se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplos 20 hasta 46

Se prepararon compuestos adicionales siguiendo de forma general los procedimientos del Ejemplo 19. Los análisis de los compuestos se muestran en Tablas 3 hasta 6.

Tabla 3: compuestos de rhodanina no reducidos

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
20		Rendimiento: 3,6 g, (93,2 %), RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) δ ppm: 2,5 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,1 (c, 4H), 7,3 (d, 2H), 7,6 (m, 3H), 8,5 (s a, 2H), m/z $^{m+1}$ 415.
21		Rendimiento: 0,108 g (69,0 %), RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,14 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,1 (m, 3H), 7,3 (m, 2H), 7,55 (m, 1H), 7,7 (s, 1H) m/z^{m+1}: 433,2.
22		Rendimiento: 0,11 g (69,0 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,2 (m, 1H), 7,07 (d, 2H), 7,09 (m, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,3 (m, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,75 (d, 1H) m/z^{m+1}: 433,2.
23		Rendimiento: 0,30 g (94,0 % RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,0 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,17 (m, 2H), 7,2 (d, 1H), 7,3 (d, 2H), 7,5 (d, 1H), 7,7 (s, 1H) m/z^{m+1}: 449,1.

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
24		Rendimiento: 0,3 g (84,0 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,12 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,0 (m, 3H), 7,3 (m, 2H), 7,5 (m, 1H), 7,6 (s, 1H), 7,9 (s, 1H), m/z^{m+1}: 449,1.
25		Rendimiento: 0,125 g (80,64 %, pureza mediante HPLC del 93,8 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz); δ 3,1 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 3,84 (s, 3H), 4,2 (m, 1H), 6,9 (d, 2H), 7,0 (d, 1H), 7,2 (m, 3H), 7,4 (d, 1H), 7,6 (s, 1H), 8,5 (s a, 2H); m/z^{m+1}: 445,1
26		Rendimiento: 1,52 g (94,4 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,1 (m, 4H), 7,3 (m, 2H), 7,6 (m, 3H). m/z^{m+1}: 414,8.
27		Rendimiento: 0,19 g (77 %), RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): 83,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,0 (d, 1H), 7,1 (d, 2H), 7,3 (d, 2H), 7,7 (s, 1H), 7,8 (s, 1H), 8,0 (d, 1H), 8,5 (s a, 2H); m/z^{m+1}: 483,0

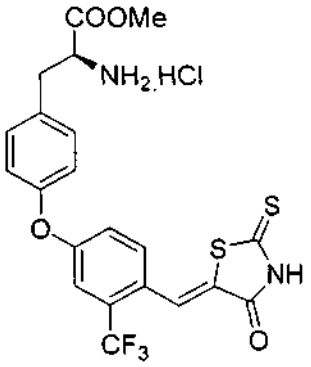
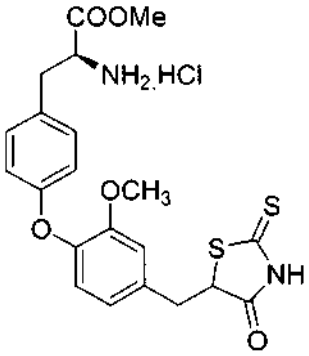
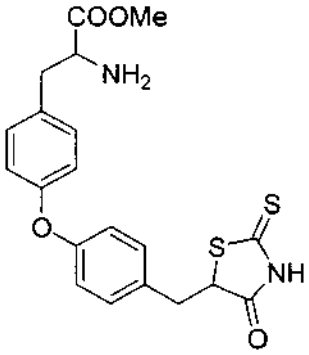
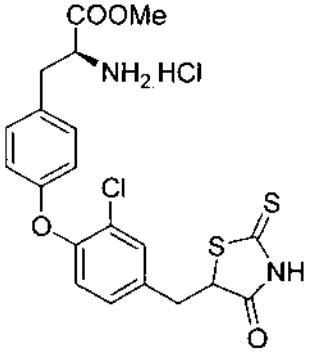
Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
28		Rendimiento: 0,20 g (81 %), RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 7,1 (d, 2H), 7,3 (m, 3H), 7,4 (d, 1H) 7,6 (d, 1H), 7,7 (d, 1H), m/z^{m+1}: 483,1

Tabla 4: compuestos de rhodanina reducidos

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
29		Rendimiento: 0,139 g (84,27 %, pureza mediante HPLC del 95,5 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz); δ 3,0 (d, 2H), 3,2 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 4,2 (m, 1H), 5,0 (m, 1H), 6,7 (d, 2H), 6,8 (d, 1H), 6,9 (d, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,15 (d, 2H), 8,4 (s a, 2H); m/z^{m+1}: 446
30		Rendimiento: 0,35 g (86,8 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (dd, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,2 (t, 1H), 5,0 (t, 1H), 6,9 (m, 4H), 7,2 (m, 4H), 8,5 (s a, 2H), 13,1 (s a, 1H). m/z^{m+1}: 417,1
31		Rendimiento: 0,14 g (70 %), RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,0 (m, 2H), 3,2 (m, 1H), 3,3 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 5,0 (m, 1H), 6,8 (d, 2H), 6,9 (d, 2H), 7,2 (m, 3H), 7,5 (s,1H), 8,41 (s a, 2H). m/z^{m+1}: 451,1

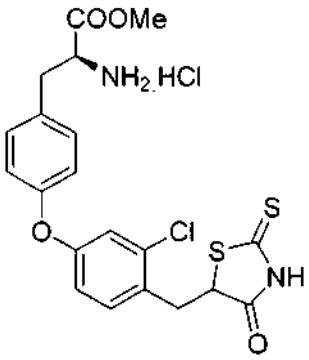
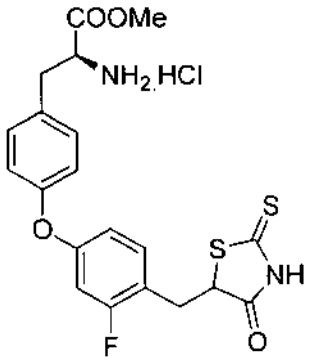
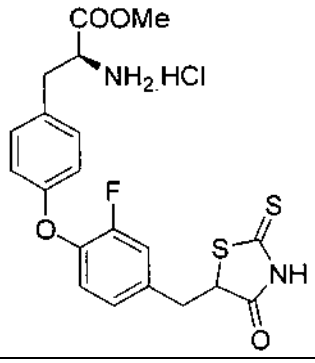
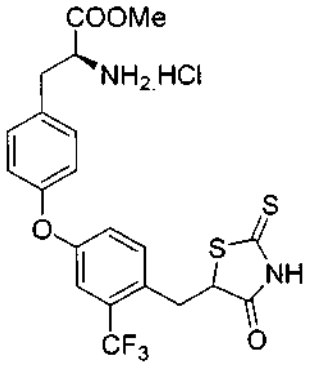
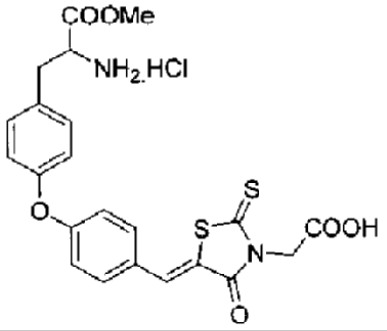
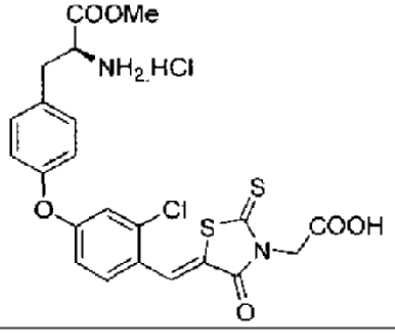
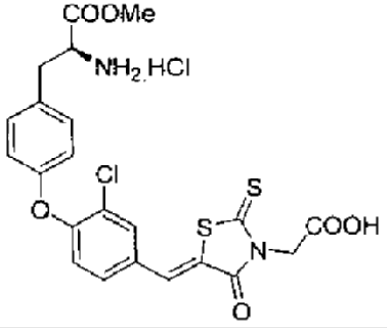
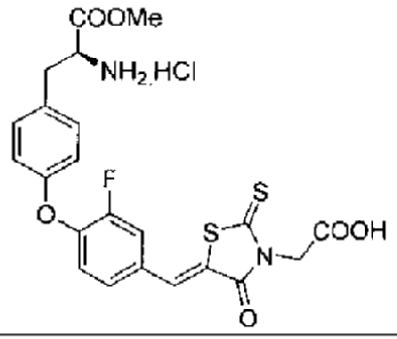
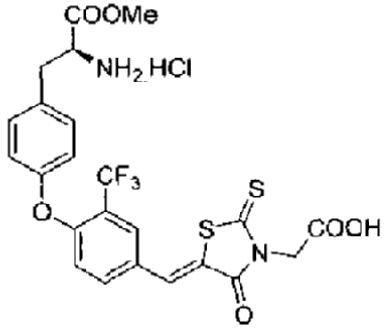
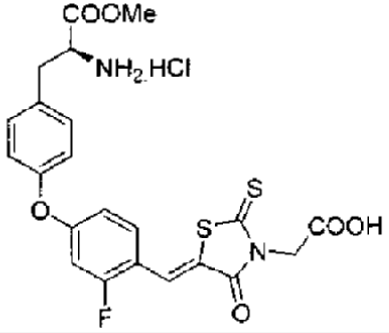
Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
32		Rendimiento: 0,14 g (70 %), RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,0 (m, 2H), 3,2 (m, 1H), 3,3 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 5,0 (m, 1H), 6,9 (m, 1H), 7,0 (m, 3H), 7,2 (m, 2H), 7,3 (d, 1H), 8,5 (s a, 2H). m/z^{m+1}: 451,1
33		Rendimiento: 0,090 g (58,4 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,18 (m, 2H), 3,2 (m, 1H), 3,38 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 4,9 (m, 1H), 6,8 (m, 2H), 7,2 (m, 2H), 7,3 (m, 3H), 8,4 (s a, 2H), m/z^{m+1}: 435,2
34		Rendimiento: 0,100 g (58,8 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,0 (m, 2H), 3,3 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,2 (t, 1H), 5,0 (t, 1H), 6,9 (d, 2H), 7,1 (d, 2H), 7,29 (m, 3H), 8,5 (s a, 2H), m/z^{m+1}: 435,4
35		Rendimiento: 0,237 g (77,4 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,12 (d, 2H), 3,32 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 3,68 (s, 3H), 4,30 (t, 1H), 4,97 (t, 1H), 7,08 (d, 2H), 7,28 (m, 4H), 7,53 (d, 1H), m/z^{m+1}: 485,2

Tabla 5: compuestos de ácido acético de rhodanina no reducidos

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
36		Rendimiento: 3,8 g (92,6 %), RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz) δ ppm: 3,1 (2H, d), 3,7 (3H, s), 4,3 (1H, m), 4,7 (2H, s), 7,1 (4H, m), 7,3 (2H, d), 7,7 (2H, d), 7,9 (1H, s), 8,5 (2H, s a) m/z^{M+1}: 473,1
37		Rendimiento: 0,38 g (93,0 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,0 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,2 (m, 1H), 4,7 (s, 2H), 7,1 (d, 1H), 7,2 (m, 2H), 7,24 (s, 1H), 7,34 (m, 2H), 7,63 (2, 1H), 7,93 (s, 1H) m/z^{m+1}: 507,1.
38		Rendimiento: 0,31 g (94,0 %), RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,12 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,33 (t, 1H), 4,7 (s,2H), 7,0 (m, 3H), 7,3 (m, 2H), 7,6 (m, 1H), 7,9 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), m/z^{m+1}: 507,1.

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
39		Rendimiento: 0,25 g (85,0 %), RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,7 (d, 2H), 7,2 (t, 1H), 7,3 (d, 2H), 7,5 (d, 1H), 7,7 (d,1 H), 7,9 (s, 1H), m/z^{m+1}: 491,1
40		Rendimiento: 0,109 g (70,8 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (t, 1H), 4,7 (s, 2H), 7,0 (d, 1H), 7,1 (m, 2H), 7,3 (dd, 2H), 7,9 (d,1H), 8,0 (s, 1H), 8,1 (d, 1H), m/z^{m+1}: 541,3.
41		Rendimiento de 0,4 g (54,9 %, pureza mediante HPLC del 97,6 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz); δ 3,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 4,7 (s, 2H), 6,9 (d, 1H), 7,0 (m, 1H), 7,1 (d, 2H), 7,2 (d, 2H), 7,3 (m, 1H), 7,6 (m, 1H); m/z^{m+1}: 491,1

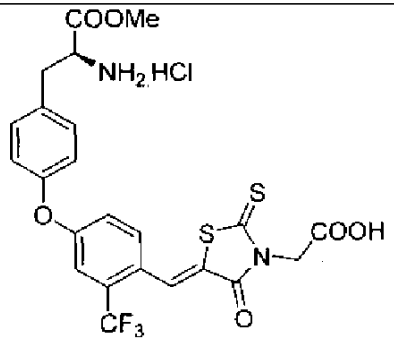
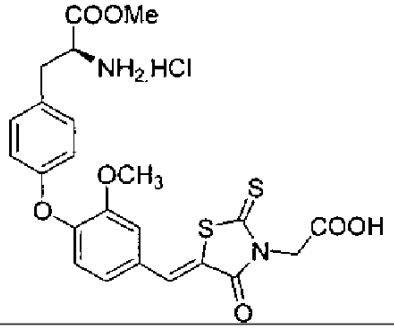
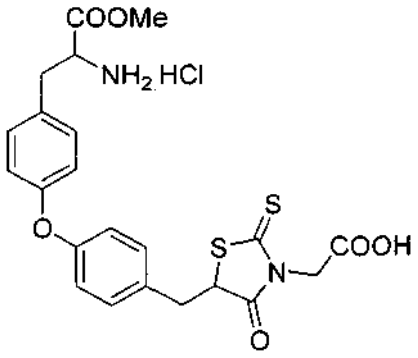
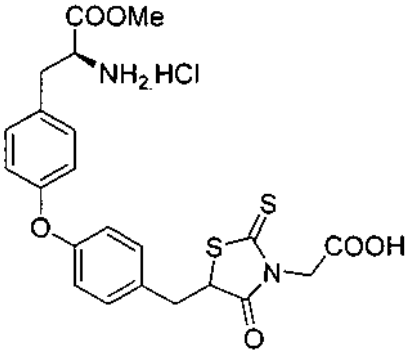
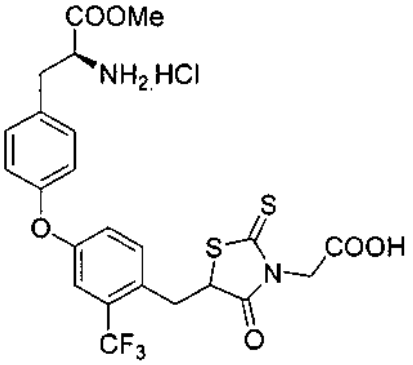
Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
42		Rendimiento de 0,100 g (54,9 %, pureza mediante HPLC del 97,6 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6 400 MHz); δ 3,1 (m, 2H), 3,6 (s, 3H), 4,2 (m, 1H), 4,7 (s, 2H), 7,2 (d, 2H), 7,3 (m, 3H), 7,4 (s, 1H), 7,7 (d, 1H), 7,8 (s, 1H); m/z^{m+1}: 541,2
43		Rendimiento de 0,124 g (62,0 %, pureza mediante HPLC del 95,25 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz); δ3,1 (d, 2H), 3,7 (s, 3H), 3,8 (s, 3H), 4,3 (t, 1 H), 4,7 (s, 2H), 6,9 (d, 2H), 7,0 (d, 1H), 7,2 (m, 3H), 7,5 (s, 1H), 7,9 (s, 1H), 8,2 (s a, 2H); m/z^{m+1}: 502

Tabla 6: compuestos de ácido acético de rhodanina reducidos

Ejemplo nº	Estructura	Datos analíticos
44		Rendimiento: 0,095 g (7 %); RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) δ ppm: 3,0 (2H, d), δ 3,1 (1H, d), δ 3,4 (2H, d), 3,6 (3H, s),4,0 (1H, s),4,2 (1H, s), 6,9 (4H, m), 7,21 (2H, m), 7,26 (2H,m). m/z^{M+1}: 475,1
45		Rendimiento: 0,1 g (55,2 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,1 (m, 3H), 3,4 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 4,3 (m, 1H), 4,5 (s, 2H), 5,1 (m, 1H), 6,9 (m, 4H), 7,2 (m, 4H). m/z^{m+1}: 474,8, p. f. 99 - 112 ºC.
46		Rendimiento: 0,517 g (81,60 %, RMN ^{1}H DMSO-d_6 400 MHz): δ 3,13 (m, 2H), 3,16 (m, 1H), 3,32 (d, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 4,33 (m, 1H), 4,6 (s, 2H), 7,09 (m, 2H), 7,24 (m, 1H), 7,29 (m, 3H), 7,58 (d, 1H), 8,5 (s a, 2H), m/z^{m+1}: 543,2

Ejemplo 47

Reducción de la glucosa en sangre en ratones diabéticos inducidos con estreptozotocina

Para inducir una diabetes se les administró estreptozotocina a ratones Swiss Webster (SW) macho de seis semanas de edad (n = 6), a una dosis de 150 mg/kg de peso corporal (ip) y después de cinco días, cuando sus niveles de glucosa en sangre (alrededor de 350 mg/dl) se les administró a través de una sonda oral el compuesto 2 (100 y 200 mg/kg) durante los siguientes 15 días, y la glucosa en sangre se monitorizó cada tres días. Los resultados se muestran en la Fig. 1.

Ejemplo 48

Reducción de los niveles de triglicéridos y de colesterol en ratones inducidos con estreptozotocina

Para inducir una diabetes en ratones SW macho normales (6 semanas de edad, n = 6), se les administró estreptozotocina a una dosis de 150 mg/kg de peso corporal (ip) y después de cinco días se les administró a través de una sonda oral el compuesto 2 (100 y 200 mg/kg) durante 15 días. El día 15 se midieron los triglicéridos séricos (A) colorimétricamente a 540 nM mediante el método de GPO-Trinder, Procedimiento nº 339) de Sigma Chemicals Inc. De forma análoga, se midió el colesterol plasmático total mediante el procedimiento de Sigma nº 352 mediante el uso de un kit colorimétrico y se comprobó la absorbancia a 500 nM. Los niveles de triglicéridos y de colesterol se muestran en las Figs. 2 A y 2 B, respectivamente.

Ejemplo 49

Reducción de la glucosa en sangre en ratones diabéticos no obesos (NOD)

Los ratones diabéticos no obesos (NOD) son un modelo típico de diabetes de tipo I, en el que no hay insulina circulante y finalmente mueren debido a los excesivamente altos niveles de glucosa. Cuando sus niveles de glucosa en sangre eran de 300 mg/dl, se trataron con el compuesto 2 (100 mg/kg) durante los siguientes 9 días y la glucosa en sangre se monitorizó cada tres días. En este experimento, el compuesto 2 redujo los niveles de glucosa en sangre en estos animales. Los resultados se muestran en la Fig. 3.

Ejemplo 50

Efecto del compuesto 2 sobre los glicéridos séricos, la insulina y los islotes pancreáticos en ratones NOD

Los ratones diabéticos no obesos (NOD) son un modelo típico de diabetes de tipo I, en el que no hay insulina circulante y finalmente mueren debido a los excesivamente altos niveles de glucosa. Cuando sus niveles de glucosa sanguínea eran de 300 mg/dl, se trataron con el compuesto 2 (100 mg/kg) durante los siguientes 9 días y el día 9 se midieron los niveles plasmáticos de triglicéridos (A) mediante el kit de ensayo de ELISA de insulina de ratón de ALPCO Diagnostics, NH. Se elaboraron secciones pancreáticas en el laboratorio de IDEXX y se contó el número de islotes (C) bajo el microscopio. Los resultados se muestran en las Figs. 4 A, 4 B y 4 C.

Ejemplo 51

Efecto del compuesto 2 sobre el nivel de triglicéridos y la presión sanguínea en ratas alimentadas con fructosa

Una dieta con mucha fructosa provoca resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia e hiperinsulinemia en ratas normales. La resistencia a la insulina es una característica fisiopatológica central de la diabetes no insulinodependiente (NIDDM), la obesidad, la hipertensión, la dislipidemia y la aterosclerosis (denominados en conjunto síndrome X). Se alimentaron ratas SD macho con una dieta con mucha fructosa (60 %) durante los primeros quince días sin tratamiento. Después de 15 días con la dieta de fructosa sus triglicéridos plasmáticos y la presión sanguínea se elevaron, y en ese momento un grupo de animales se trató con el compuesto 2 (50 mg/kg) durante los siguientes 15 días. Se midieron los triglicéridos sanguíneos (Fig. 5 A) mediante el método de GPO-Trinder (Sigma) cada tres días y la presión sanguínea (Fig. 5 B) se controló mediante el sistema de presión sanguínea en la cola de la rata XBP 1000, Kent scientific Inc. El compuesto 2 reduce tanto los TG como la presión sanguínea en este modelo.

Ejemplo 52

El compuesto 2 no es un agonista del PPARα, γ y δ

Se llevó a cabo un experimento de transactivación en células NIH 3T3 con el gen PPARγ completo o quimérico y un constructo indicador FATP-PPRE. Se mantuvieron la rosiglitazona (Rosi) y la pioglitazona (Pio) como controles positivos. En comparación con la rosiglitazona y con la pioglitazona, el compuesto 2 no mostró ninguna afinidad por el PPARγ en este sistema.

Se llevó a cabo un experimento de transactivación en células NIH 3T3 con el gen PPARα completo o quimérico y un constructo indicador FATP-PPRE. Se mantuvo el Wy14643 (Wyet) como control positivo. En comparación con este, el compuesto 2 no mostró ninguna afinidad por el PPARα en este sistema.

Se llevó a cabo un experimento de transactivación en células NIH 3T3 con el gen PPARδ completo o quimérico y un constructo indicador FATP-PPRE. Se mantuvo el L165041 (L-165) como control positivo. Los resultados se muestran en la Fig. 6.

Ejemplo 53

Eficacia *in vitro* de los compuestos 2 y 16

Se diferenciaron fibroblastos 3T3-L1 en adipocitos mediante un cóctel que contiene insulina, dexametasona y IBMX durante varios días. Los adipocitos completamente diferenciados se trataron con los compuestos (2 y 16 a unas concentraciones de 0,1, 1 y 10 µM) o con DMSO al 0,1 % durante 72 h y después se realizó la captación de glucosa durante 15 min sin nada de insulina. La captación basal se inició mediante la adición de 14C-2DOG radioactiva y después de 15 min se lavaron con PBS frío con glucosa fría. Los resultados se muestran en la Fig. 7.

Ejemplo 54

Eficacia *in vitro* del compuesto 16 en ratones db/db

Se trataron por vía oral ratones diabéticos macho db/db (modelo espontáneo) de siete semanas de edad con el compuesto 16 a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal en PEG al 5 % y la glucosa sanguínea se controló mediante un glucosímetro *one touch*. Este compuesto no es soluble en agua, por lo que se usó PEG como vehículo. Los resultados se muestran en la Fig. 8.

Ejemplo 55

Los compuestos 2 y 16 no son adipogénicos

Aunque se ha demostrado que el compuesto 2 no induce adipogénesis ni la expresión de aP2, como otros compuestos conocidos o agonistas del PPARγ, se llevó a cabo un ensayo para ver el efecto de su forma ácida en experimentos de adipogénesis similares en fibroblastos 3T3-L1. Todos los agonistas del PPAR-g conocidos inducen una diferenciación en fibroblastos. El potencial adipogénico de estos compuestos se correlaciona con su afinidad por este receptor. Para comprobar rápidamente si el compuesto **2**, el compuesto **16** tienen afinidad por estos receptores, se trataron fibroblastos 3T3-L1 con DMSO de control o con rosiglitazona como control positivo o con estos dos compuestos durante varios días a diferentes concentraciones. El día 11, los adipocitos diferenciados se tiñeron con Oil-red-O (Sigma) y se lavaron concienzudamente para eliminar la tinción no unida. El enfriador rojo se extrajo con isopropanol y se midió colorimétricamente a 540 nM. El agonista del PPAR-g rosiglitazona indujo fuertemente una adipogénesis en este sistema celular, mientras que ambos compuestos 2 y 16 permanecían sin modificar, esto es la prueba indirecta de que ni el compuesto **2**, ni tampoco el compuesto 16, tienen afinidad por el receptor PPARg. Los resultados se muestran en la Fig. 9.

Ejemplo 56

Reducción de la glucosa en sangre por parte de los compuestos 20 y 36 en ratones db/db

Se trataron por vía oral ratones diabéticos macho db/db (modelo espontáneo) de siete semanas de edad con los compuestos **20** y **36**, a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal en PEG al 5 %, y la glucosa en sangre se controló mediante un glucosímetro *one touch*. Ambos compuestos mostraron una actividad reductora de la glucosa en este modelo animal de diabetes de tipo II. Los resultados se muestran en la Fig. 10.

Ejemplo 57

Efecto de los compuestos 20 y 36 sobre el peso corporal y los niveles de triglicéridos en ratones db/db

Se trataron por vía oral ratones diabéticos macho db/db (modelo espontáneo) de siete semanas de edad con los compuestos **20** y **36**, a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal en 5 % PEG y la glucosa sanguínea se controló mediante un glucosímetro *one touch*. Ambos compuestos mostraron un control del peso corporal y una reducción en los niveles plasmáticos de triglicéridos en comparación con los controles sin tratar. Los resultados se muestran en las Figs. 11 A y 11 B.

Ejemplo 58

Reducción de la glucosa en sangre en ratones ob/ob por parte del compuesto 36

Se trataron por vía oral ratones diabéticos macho ob/ob de siete semanas de edad (modelo espontáneo obeso resistente a la insulina de diabetes de tipo II) con el compuesto **36**, a una dosis de 50 mg/kg de peso corporal en PEG al 5 %, y la glucosa en sangre (Fig. 12 A) se controló mediante un glucosímetro *one touch* el día 3 y el día 6. El compuesto **36** mostró una fuerte actividad reductora de la glucosa (A) en este modelo animal de diabetes de tipo II. El peso corporal (Fig. 12 B) tampoco aumentó después del tratamiento con el compuesto 36 en comparación con los controles.

Ejemplo 59

Inhibición de la reductasa de aldosa por parte de los compuestos 2 y 16

La reductasa de aldosa, un miembro de la aldo-cetreductasa monomérica dependiente de NADPH, es una enzima limitante de la velocidad en la ruta de los polioles que cataliza la reducción de varios aldehídos. Esto incluye la reducción de la forma de aldehído de la glucosa a su correspondiente alcohol de azúcar sorbitol. Se ha informado de la acumulación de sorbitol en el cristalino, el nervio, el riñón y la retina de animales diabéticos. Grandes cantidades de sorbitol provocan una desestabilización osmótica que puede ser uno de los factores etiogénicos en la patogenia de algunas complicaciones diabéticas como la retinopatía, la neuropatía, la nefropatía y la aterosclerosis.

La reductasa de aldosa del cristalino de rata se purificó parcialmente mediante el uso de una homogeneización del tejido. Se preincubaron el compuesto de ensayo y/o el vehículo, 0,6 mg de enzima, NADPH 0,2 mM y tampón de ensayo de fosfato a pH 6,2 a 25 ºC durante 3 minutos. Se observó la absorbancia a 340 nm para el valor inicial de tiempo cero. Después, la reacción se inicia mediante la adición de DL-gliceraldehído 10 mM y se continúa la incubación durante 20 minutos a 25 ºC, momento en el cual se anota la absorbancia final. La actividad enzimática se determina mediante la diferencia entre la absorbancia inicial y final. Los resultados se muestran en las Figs. 13 A y 13 B.

REIVINDICACIONES

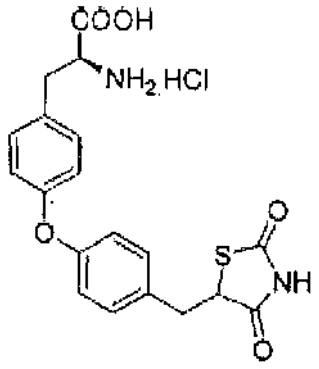
1. Un compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en:

sal del ácido clorhídrico del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}propiónico;
sal (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-propionato disódico;
sal (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}-propionato dipotásico; y
sal del ácido clorhídrico del metil éster del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado de entre el grupo que consiste en:

sal del ácido clorhídrico del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico; y
sal del ácido clorhídrico del metil éster del ácido (S)-2-Amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil} propiónico.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es la sal del ácido clorhídrico del ácido (S)-2-amino-3-{4-[4-(2,4-dioxo-tiazolidin-5-ilmetil)-fenoxi]-fenil}propiónico



.

4. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una mezcla de compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un vehículo farmacéuticamente aceptable, suficiente para reducir en un sujeto el nivel plasmático de glucosa, de ácidos grasos, de colesterol o de triglicéridos.

5. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o de una mezcla de compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un vehículo farmacéuticamente aceptable suficiente para tratar la obesidad, enfermedades autoinmunes, la inflamación, enfermedades inmunológicas, la diabetes o trastornos relacionados con la resistencia a la insulina en un sujeto.

6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en el tratamiento de una complicación diabética seleccionada de entre retinopatía, neuropatía, nefropatía y aterosclerosis.

Fig. 1

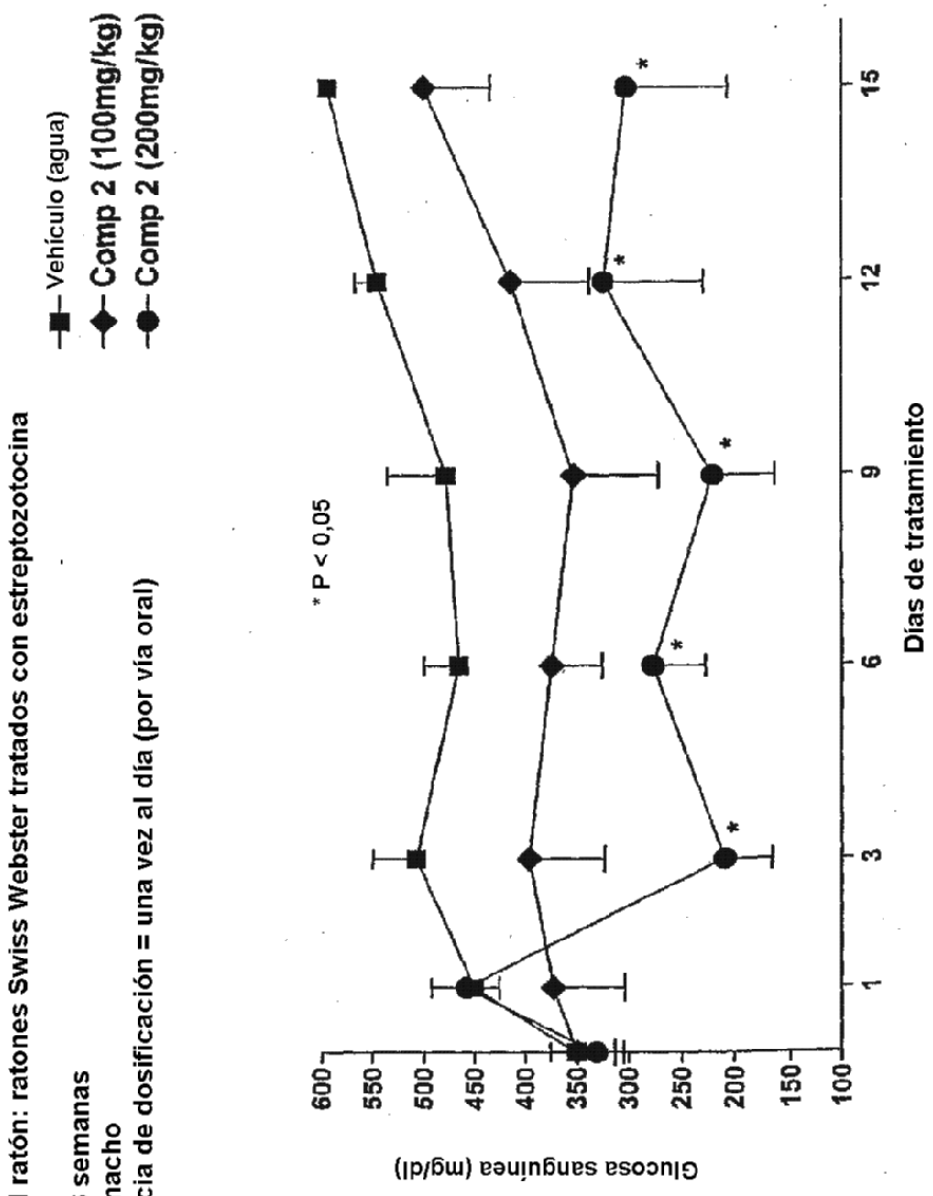

Raza del ratón: ratones Swiss Webster tratados con estreptozotocina
n = 6
Edad = 6 semanas
Sexo = macho
Frecuencia de dosificación = una vez al día (por vía oral)
Vehículo (agua)
Comp 2 (100mg/kg)
Comp 2 (200mg/kg)
* P < 0,05
Glucosa sanguínea (mg/dl)
Días de tratamiento
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
100
1
3
6
9
12
15

Fig. 2B

Nivel de colesterol en el modelo con estreptozotocina

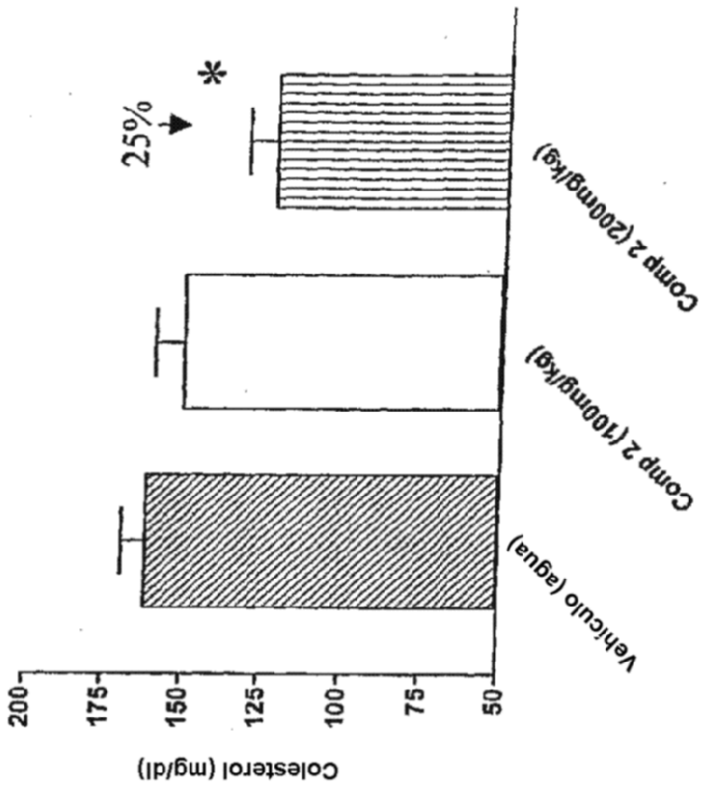
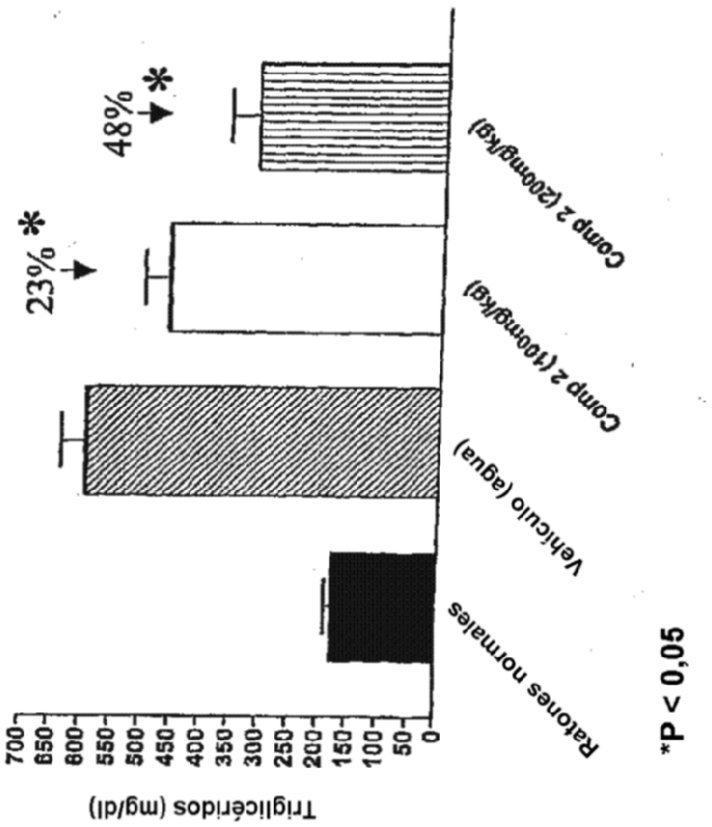


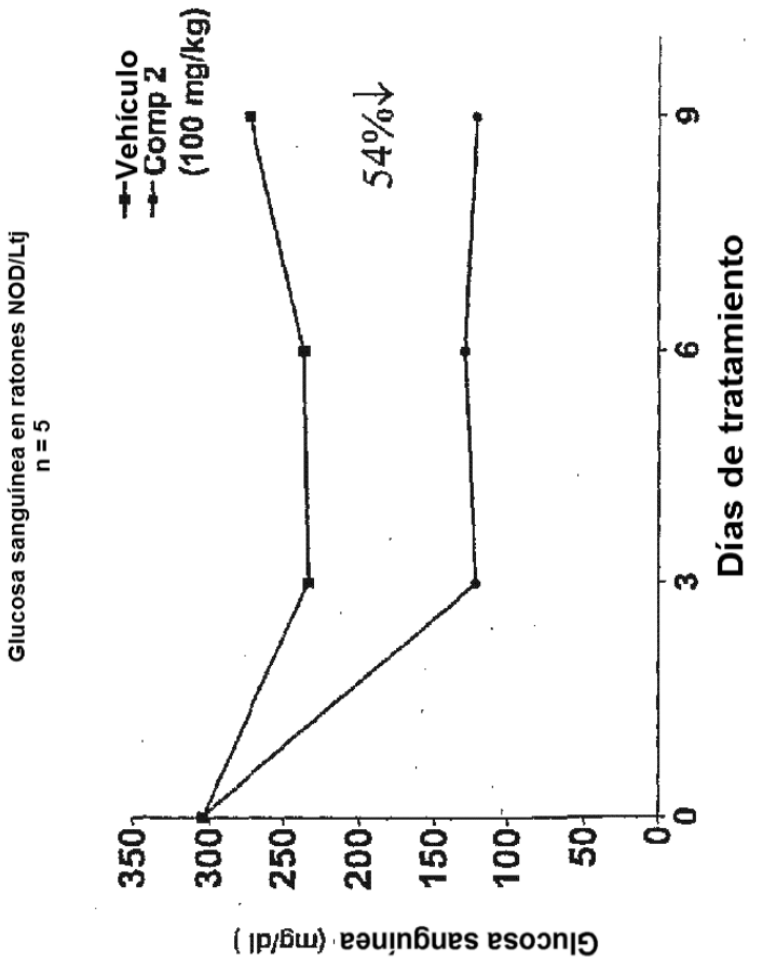
Fig. 2A

Nivel de triglicéridos en suero de tratados con estreptozotocina y



*P < 0,05

Fig. 3


Glucosa sanguínea en ratones NOD/Ltj
n = 5
Vehículo
Comp 2
(100 mg/kg)
54%↓
Glucosa sanguínea (mg/dl)
350
300
250
200
150
100
50
0
0
3
6
9
Días de tratamiento

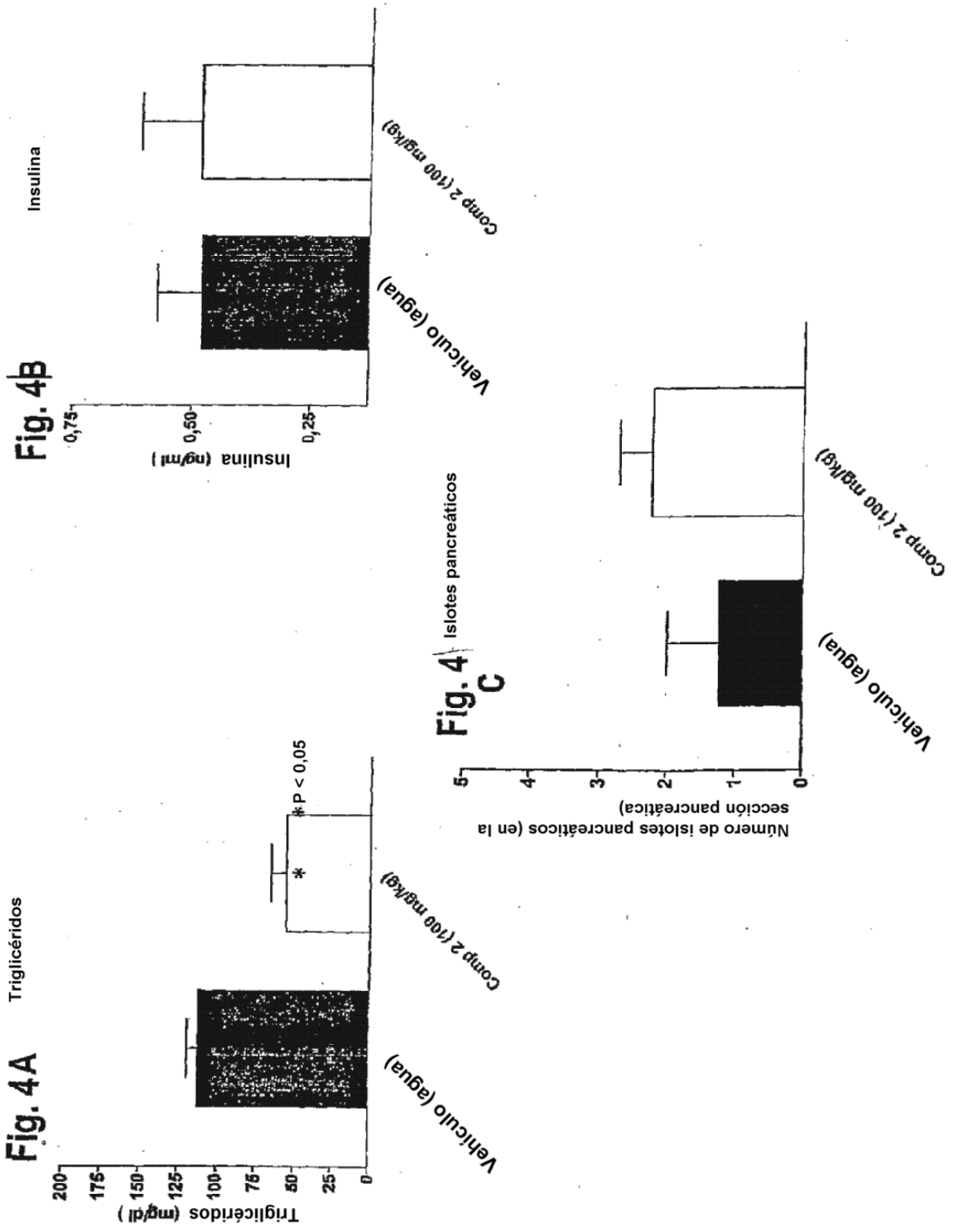


Fig. 4A
Triglicéridos
Triglicéridos (mg/dl)
200
175
150
125
100
75
50
25
0
*
*P < 0,05
Vehículo (agua)
Comp 2 (100 mg/kg)
Fig. 4B
Insulina
Insulina (ng/ml)
0,75
0,50
0,25
Vehículo (agua)
Comp 2 (100 mg/kg)
Fig. 4C
Islotes pancreáticos
Número de islotes pancreáticos (en la sección pancreática)
5
4
3
2
1
0
Vehículo (agua)
Comp 2 (100 mg/kg)

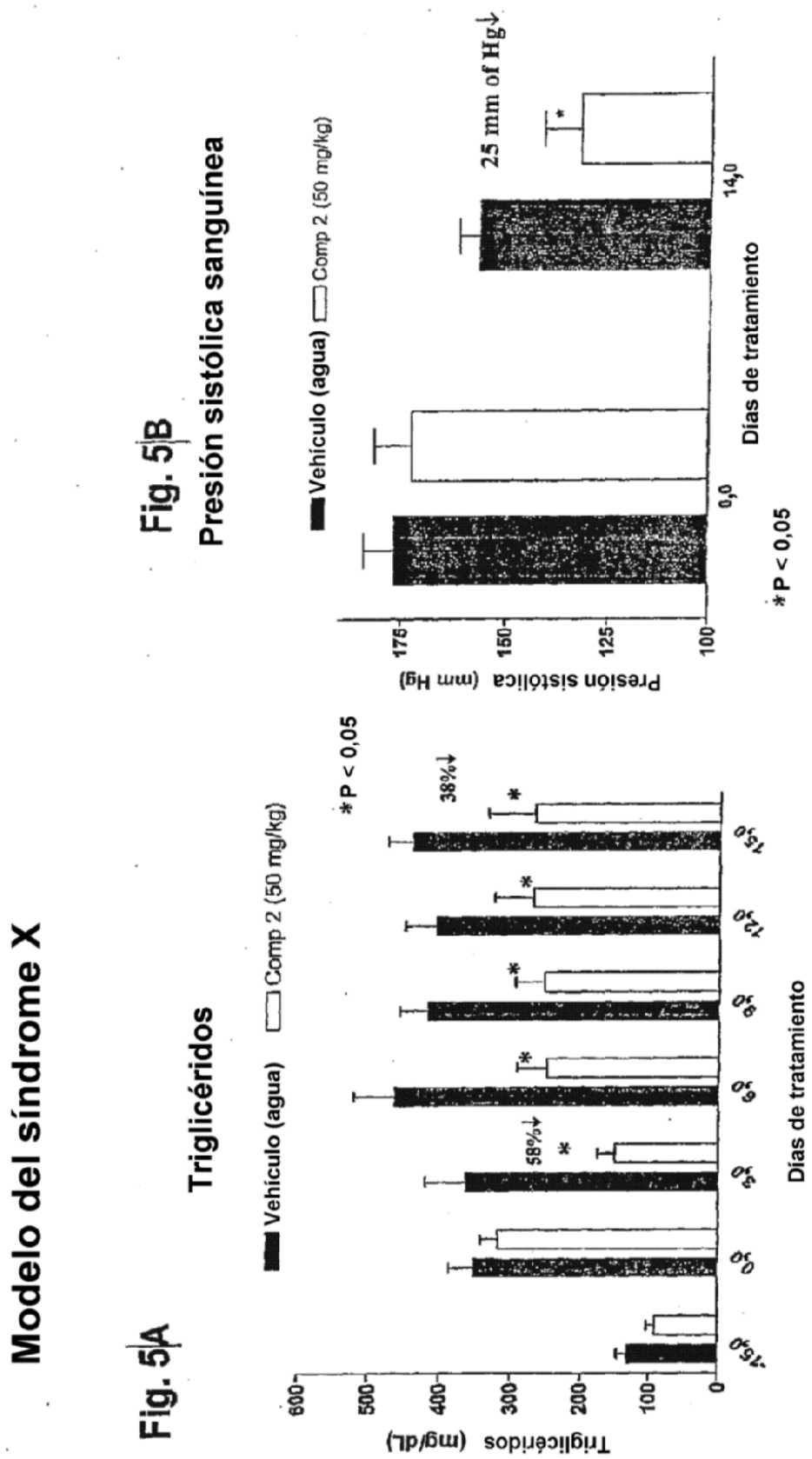

Modelo del síndrome X
Fig. 5A
Triglicéridos
Vehículo (agua)
Comp 2 (50 mg/kg)
* P < 0,05
38%↓
58%↓
Triglicéridos (mg/dL)
Días de tratamiento
Fig. 5B
Presión sistólica sanguínea
Vehículo (agua)
Comp 2 (50 mg/kg)
25 mm of Hg↓
Presión sistólica (mm Hg)
Días de tratamiento
* P < 0,05

Figura 6

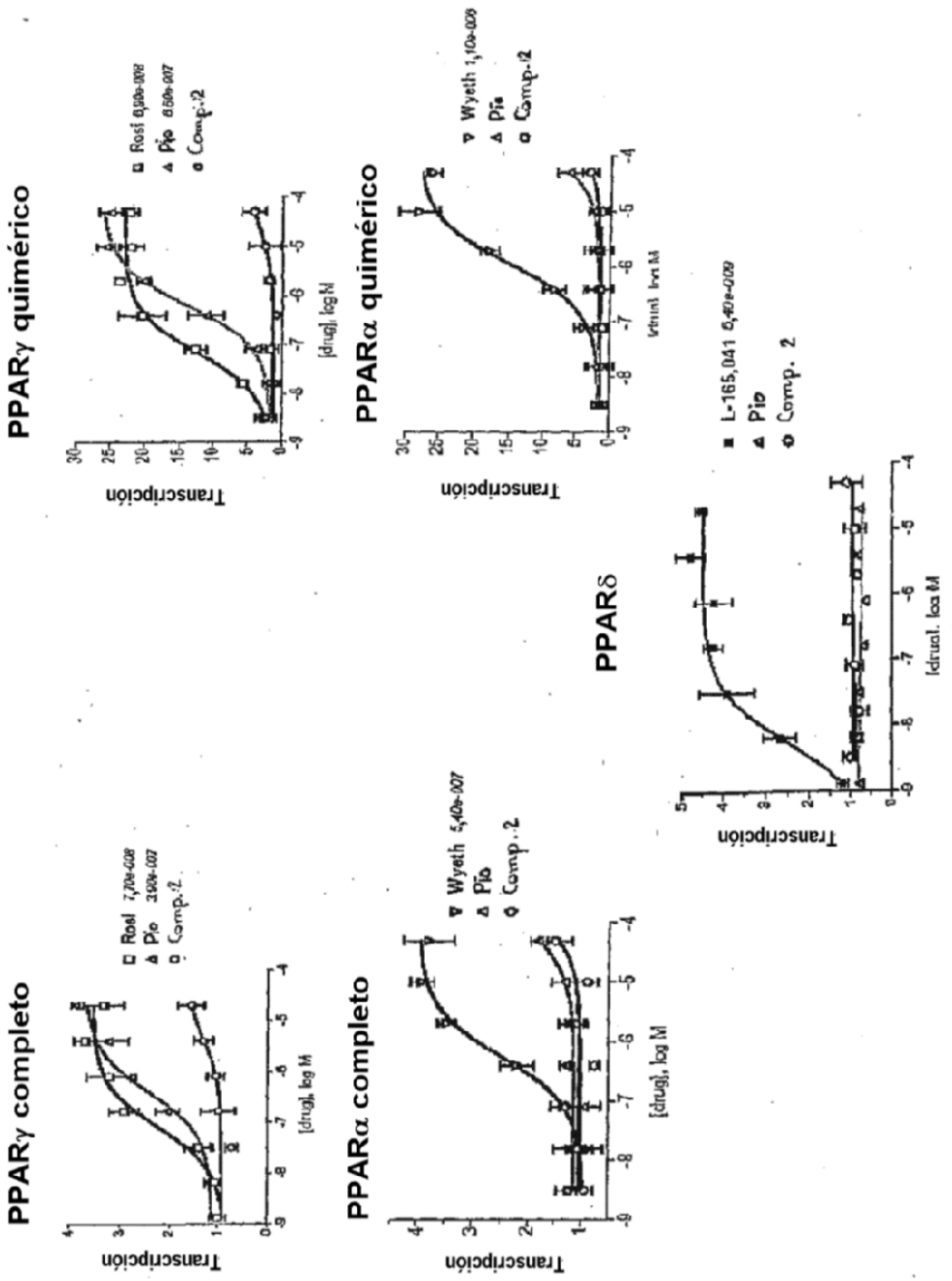

PPARγ completo
Rosi 7,70e-008
Pio 3,90e-007
Comp.-2
Transcripción
[drug], log M
PPARγ quimérico
Rosi 9,90e-008
Pio 8,60e-007
Comp.-2
Transcripción
[drug], log M
PPARα completo
Wyeth 5,40e-007
Pio
Comp.-2
Transcripción
[drug], log M
PPARα quimérico
Wyeth 1,10e-006
Pio
Comp.-2
Transcripción
[drug], log M
PPARδ
L-165,041 6,40e-009
Pio
Comp. 2
Transcripción
[drug], log M

Figura 7

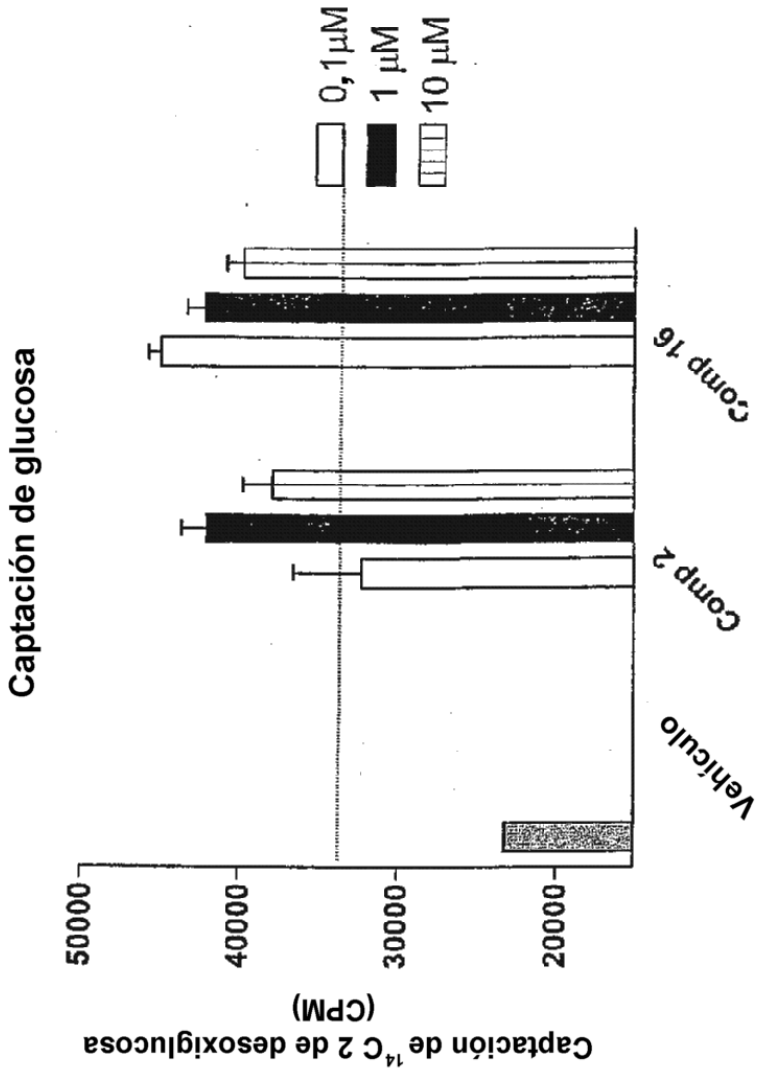

Captación de glucosa
Captación de ^{14}C 2 de desoxiglucosa (CPM)
50000
40000
30000
20000
0,1µM
1 µM
10 µM
Vehículo
Comp 2
Comp 16

Figura 8

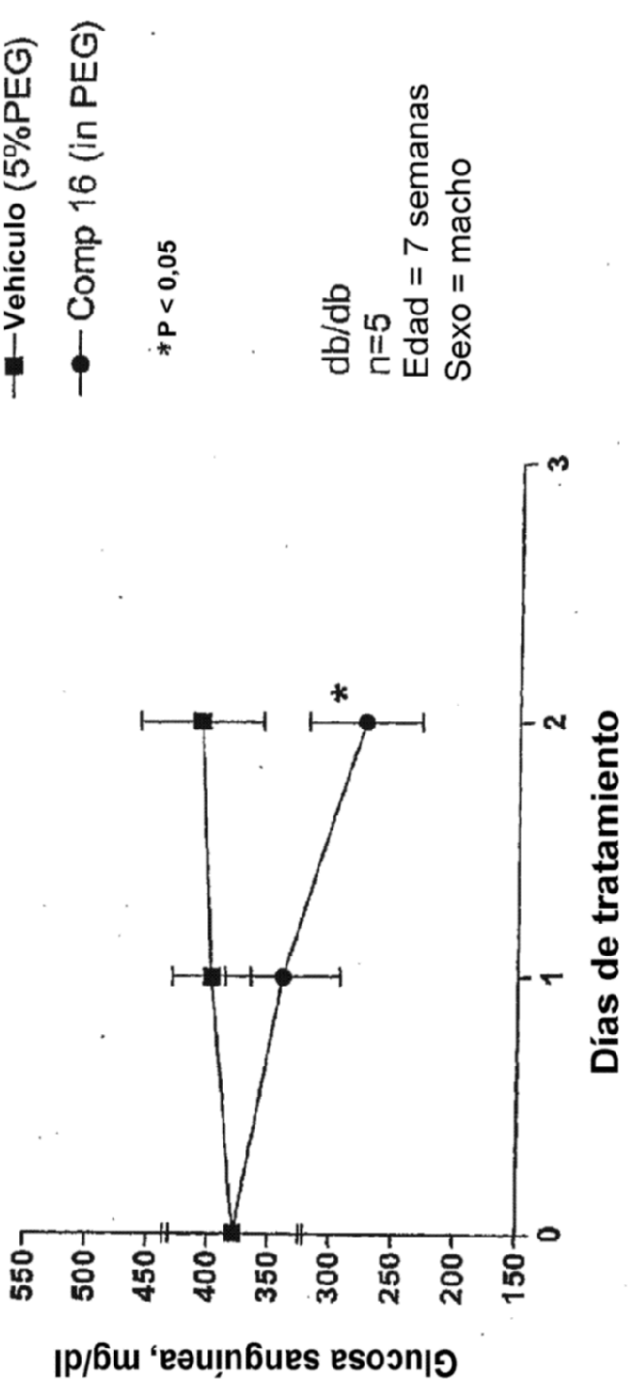

Vehículo (5%PEG)
Comp 16 (in PEG)
*P < 0,05
db/db
n=5
Edad = 7 semanas
Sexo = macho
Glucosa sanguínea, mg/dl
550
500
450
400
350
300
250
200
150
0
1
2
3
Días de tratamiento
*

Figura 9

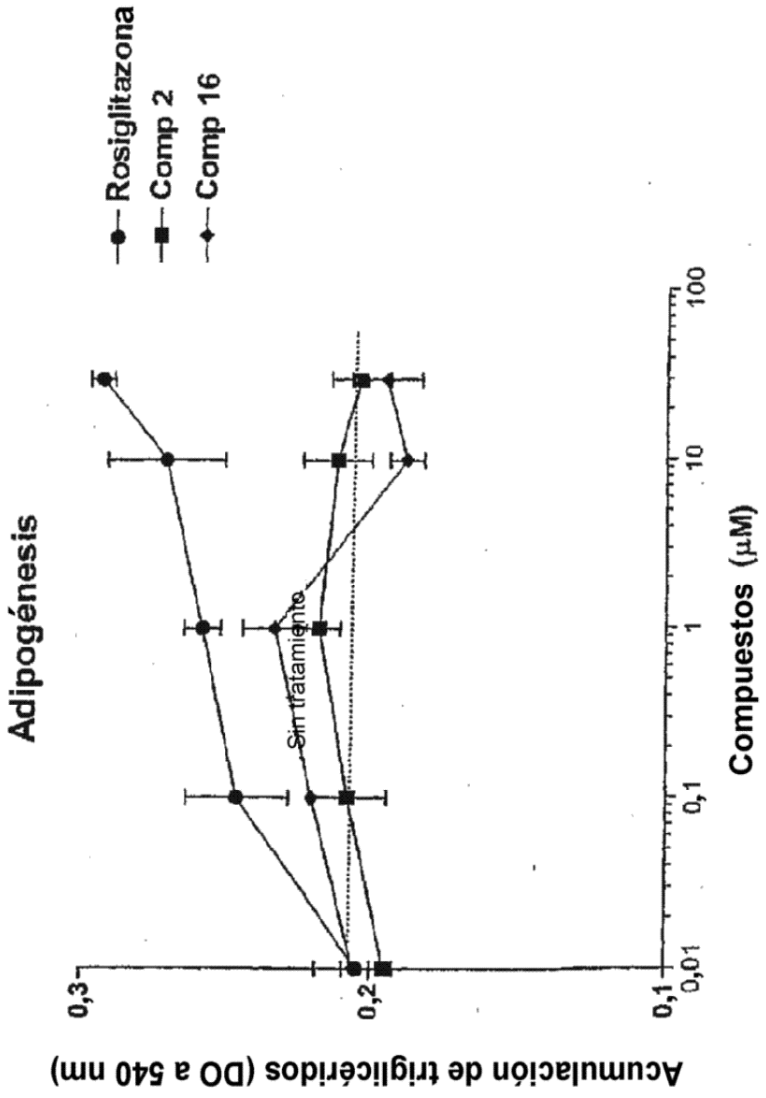

Rosiglitazona
Comp 2
Comp 16
Adipogénesis
Sin tratamiento
Acumulación de triglicéridos (DO a 540 nm)
0,3
0,2
0,1
0,01
0,1
1
10
100
Compuestos (µM)

Fig.10

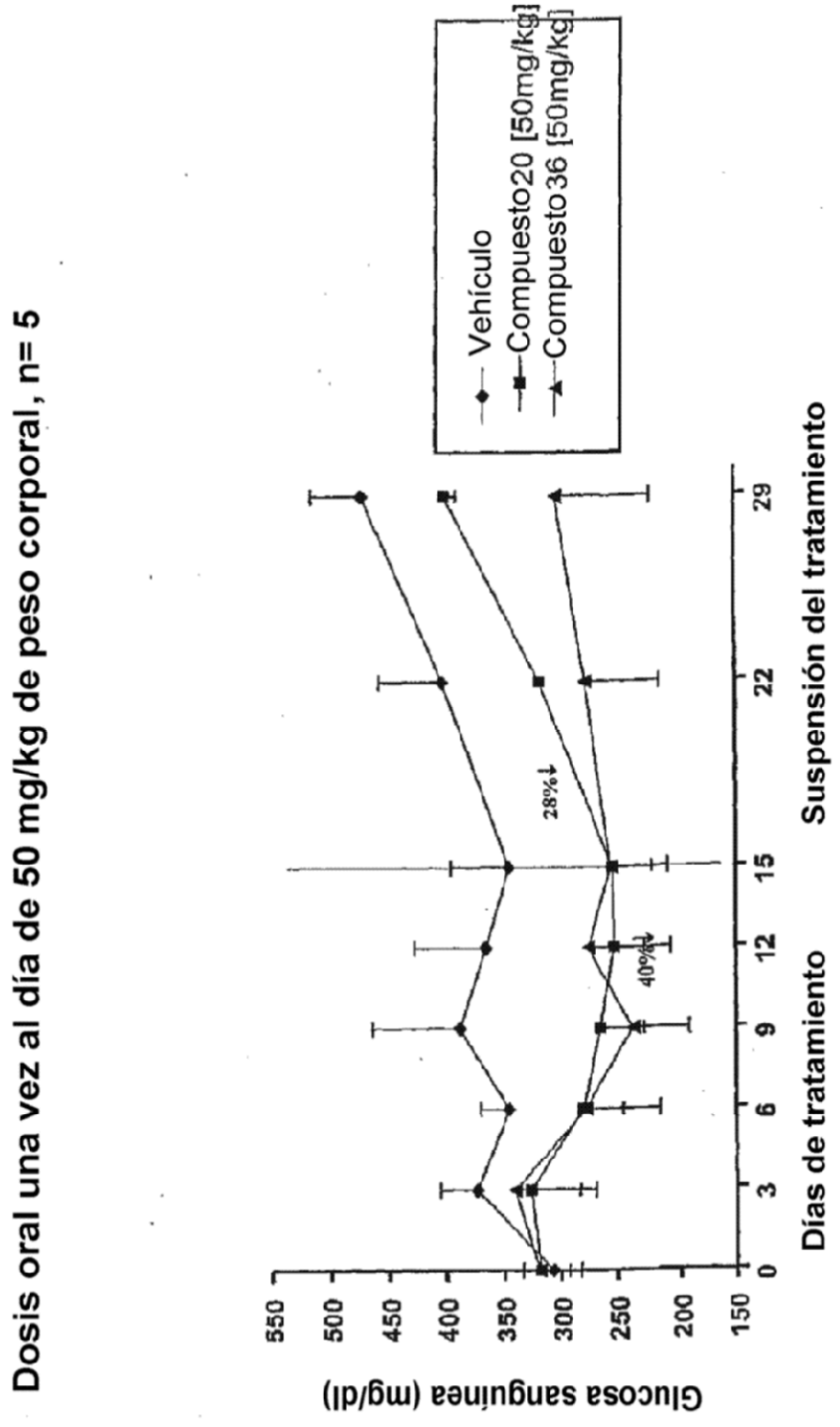

Dosis oral una vez al día de 50 mg/kg de peso corporal, n= 5
Glucosa sanguínea (mg/dl)
550
500
450
400
350
300
250
200
150
0
3
6
9
12
15
22
29
Días de tratamiento
Suspensión del tratamiento
Vehículo
Compuesto20 [50mg/kg]
Compuesto36 [50mg/kg]
28%↓
40%↓

Fig.11A

Dosis oral una vez al día de 50 mg/kg de peso corporal, n= 5

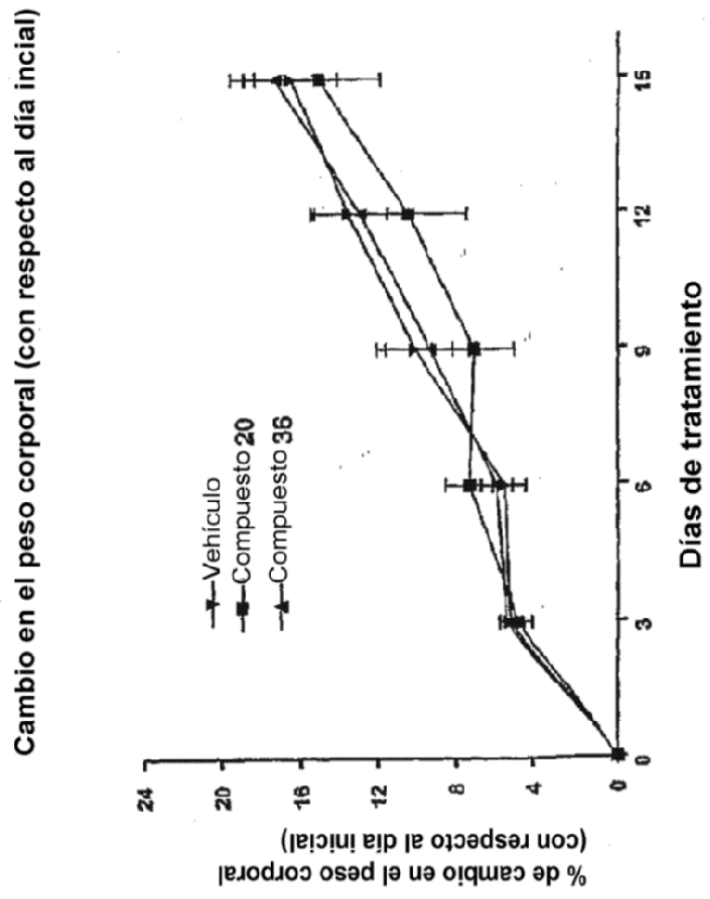
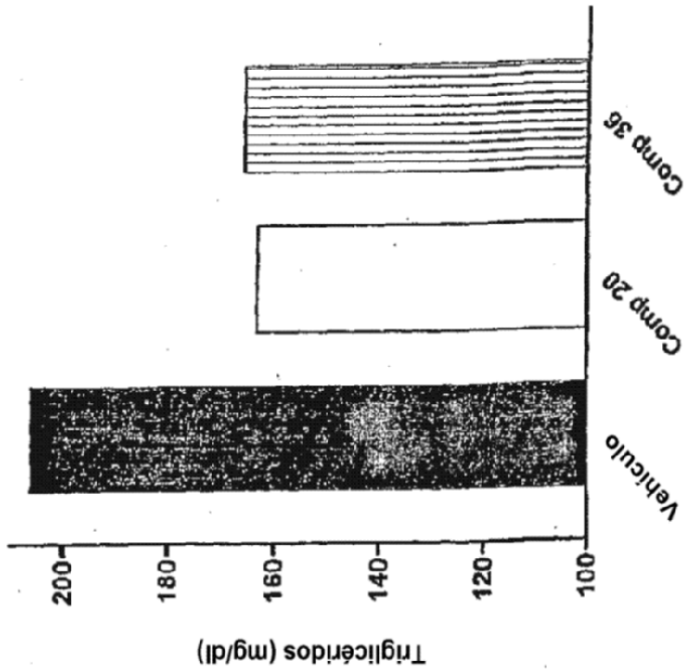


Fig.11B



Dosis oral una vez al día de 50 mg/kg de peso corporal durante 6 días

Fig.12A

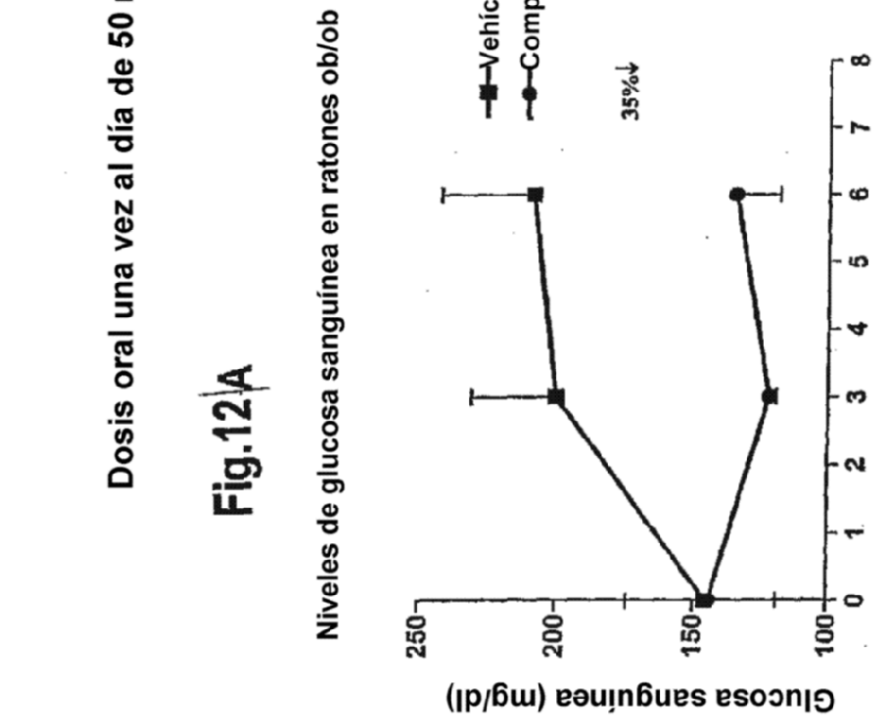


Fig.12B

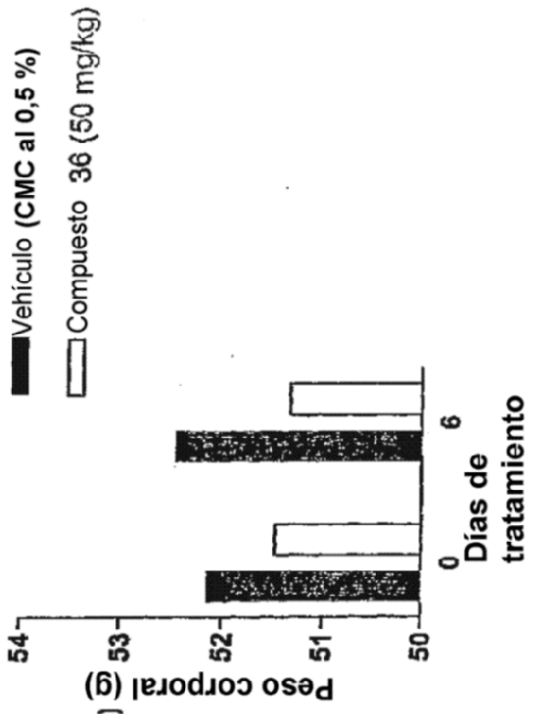


Fig. 13B

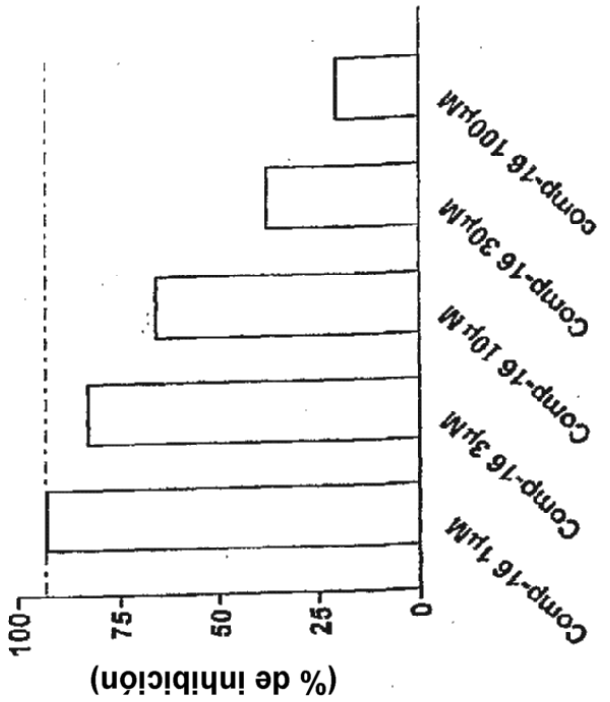
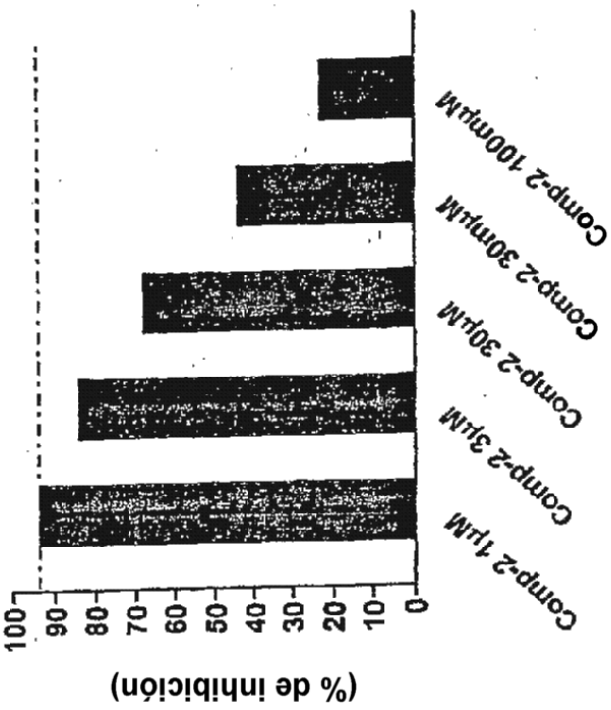



Fig. 13A